

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平7-507472

第1部門第2区分

(43) 公表日 平成7年(1995)8月24日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

A 6 1 B 10/00

識別記号

庁内整理番号

F I

T 8825-4C

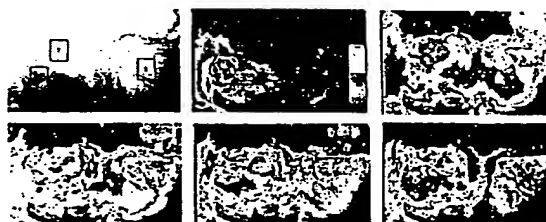
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願平6-501728	(71) 出願人	ユニヴァーシティー オブ ワシントン アメリカ合衆国 ワシントン州 98195 シアトル メール ストップ エક્クスデ イー-40 オフィース オブ テクノロジ ー トランスファー
(86) (22) 出願日	平成5年(1993)6月7日	(72) 発明者	ハックマン ダリル アメリカ合衆国 ワシントン州 98020 エドモンズ エドモンズ ウェイ 22933
(85) 翻訳文提出日	平成6年(1994)12月8日	(72) 発明者	ハグラント マイケル エム アメリカ合衆国 ワシントン州 98133 シアトル エヌ ワンハンドレッドナイン ティセブンス ブレイス 1647
(86) 国際出願番号	PCT/US 93/05573	(74) 代理人	弁理士 杉村 暁秀 (外1名)
(87) 国際公開番号	WO 93/25141		
(87) 国際公開日	平成5年(1993)12月23日		
(31) 優先権主張番号	894, 270		
(32) 優先日	1992年6月8日		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, BR, CA, CZ, H U, J P, KR, RU		

(54) 【発明の名称】 充実性腫瘍、皮質機能および神経撮像

(57) 【要約】

本発明は注目部位に位置する充実性腫瘍組織の縁部、等級および大きさを撮像方法および装置を提供する。この方法および装置は染料により吸収される電磁放射線の波長を含む高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のビデオ信号を平均化制御像として得るとともにこの平均化制御像を処理して平均化制御フレームを得、注目部位に循環する血管内にボラス注入により染料を導入し、注目部位の一連の次のフレームを次の像として時間に対して得るとともに各次の像を次のフレームとして処理し、各次のフレーム列と処理された平均化制御フレームとを比較して一連の差分像を得、且つ充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化吸収の初期証拠として各差分像を比較して、腫瘍組織が、充実性神経組織の増大血管および染料を正常な組織が迅速にクリアし得ないことにより、染料を一層迅速に吸収し得るようになる。



よび大きさを撮像する方法。

1. 注目部位に位置する充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像するに当たり、
  - (a) 染料により吸収される電磁放射線の放長を含む電磁放射線により注目部位を照射し、
  - (b) 注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、
  - (c) 注目部位に隣接する血管内にボーラス注入により染料を導入し、
  - (d) 注目部位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
  - (e) 各々次のフレーム列と処理された平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ
  - (f) 充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した吸収の証拠として各差分像を比較して腫瘍組織が染料を一層迅速に吸収するとともに一層長く保持することを特徴とする充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

2. 前記染料を、インドシアニンググリーン、ヘマトポルフィリン、フルオレsein、フルオレスカミン、NP、 $\alpha$ 、D P D、エバンスブルー、およびその組合せより成る群から選択することを特徴とする請求項1に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

3. 各画素の変化速度および大きさを、
  - (a) 染料により吸収される電磁放射線の放長に対し各画素のベースライン値を決め、
  - (b) 染料を血管に注入し、
  - (c) 電磁放射線の特定の放長に対し画素値の次の列を得、
  - (d) 次の平均化像から第1平均化像フレームを差分的に合成して差分像を得、
  - (e) この差分像をアナログ像に重畳すること、
 によって比較することを特徴とする請求項1に記載の充実性腫瘍組織の縁部お

- (c) 各々次の処理されたデジタル化画像データを第2フレームバッファに記憶する手段と、
- (d) 前記平均化制御像と前記第1および第2フレームバッファからの次の平均化像とを減算的に合成して第3フレームバッファに記憶される差分像を形成し、
- (e) 前記差分像を処理して全ダイナミック範囲に亘り像を伸張する手段と、
- (f) 前記差分像をカラー符号化する手段と、
- (g) 重畳されたカラー符号化差分像を監視するモニタとを具備することを特徴とする請求項5に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

7. 腫瘍組織を撮像する装置は、
  - (a) アナログビデオ信号を得る手段およびこのアナログビデオ信号を処理して平均化制御像又は次の像を得る手段と、
  - (b) 複数の平均化像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび雑音を計数し位置のダイナミック範囲を横切る変化を増幅する手段と、
  - (c) 差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重畳された差分像を表示する手段とを具備することを特徴とする腫瘍組織撮像装置。

8. アナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段は、
  - (a) アナログビデオ信号をデジタル化し、且つこのデジタル化信号をある完全なダイナミック範囲に亘って処理する手段と、
  - (b) 一連のフレームを平均化して平均化制御像を形成するとともにこの平均化制御像からのデータを第1フレームバッファに記憶する手段と、
  - (c) 各々次の処理されたデジタル化画像データを第2フレームバッファに記憶する手段と、
  - (d) 前記平均化制御像と前記第1および第2フレームバッファからの次の平均化像とを減算的に合成して第3フレームバッファに記憶される差分像を形成

4. 患者の皮膚の重要な機能領域および機能不全領域を光学的に撮像するに当たり、
  - (a) 高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、
  - (b) 注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、
  - (c) 患者のパラダイムを注入して内在信号を刺激し、
  - (d) 注目部位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
  - (e) 各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ
  - (f) 注目部位内の内在信号の証拠として各差分像を比較して内在信号が差分像の信号として表される反射特性の変化によって特徴付けられることを特徴とする充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

5. (a) アナログビデオ信号を得る手段およびこのアナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段と、
  - (b) 複数の平均化像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび雑音を計数し位置のダイナミック範囲を横切る変化を増幅する手段と、
  - (c) 差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重畳された差分像を表示する手段とを具備する装置によって内在信号を検出することを特徴とする請求項4に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

6. アナログビデオ信号を処理して平均化制御像または次の平均化像を得る手段は、
  - (a) アナログビデオ信号をデジタル化し、且つこのデジタル化信号をある完全なダイナミック範囲に亘って処理する手段と、
  - (b) 一連のフレームを平均化して平均化像を形成するとともにこの平均化像フレームからのデータを第1フレームバッファに記憶する手段と、

し、

- (c) 前記差分像を処理して全ダイナミック範囲に亘り像を伸張する手段と、
- (f) 前記差分像をカラー符号化する手段と、
- (g) アナログビデオ像上に前記カラー符号化差分像を重畳する手段およびこのカラー符号化差分像を監視するモニタとを具備することを特徴とする請求項7に記載の腫瘍組織撮像装置。

9. 前記比較ステップ(eおよびf)は少なくとも2つの像を差分的に合成してデジタル像を得る手段を具備し、前記2つの像は幾何学的に変換することにより相互に空間的に変換することを特徴とする請求項7に記載の腫瘍組織撮像装置、または請求項5に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

10. 前記ステップ(d)および(e)は前記平均化制御像から次の平均化像を減算して第1差分像を得るとともにこの次の平均化像から前記平均化制御像を減算して第2差分像を得、且つこれら第1差分像および前記第2差分像を加算して増加したニューロン活動の領域および禁止されたニューロン活動の領域を示す和の差分像を形成することを特徴とする請求項8に記載の腫瘍組織撮像装置、または請求項6に記載の充実性腫瘍組織の縁部および大きさを撮像する方法。

11. 末梢神経又は脳神経に対する図像を撮像するに当たり、

- (a) 損傷の疑わしき箇所およびその上流の領域を含む重要な末梢神経又は脳神経を撮像する注目部位を電磁放射線に照射し、
- (b) 注目部位のビデオ信号を一連のフレームとして得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、
- (c) 損傷の疑わしき箇所の上流の箇所の末梢神経又は脳神経を刺激し、
- (d) 刺激時にフレームの次の列を得るとともにこれらフレームの次の列を処理して次の平均化像を得、
- (e) 次の平均化像から平均化制御像を減算して差分像を得て末梢神経又は脳神経の活性領域を撮像し、これにより、刺激された神経からの内在信号が急激

に終端するか、または差分像に変換される神経の箇所に着う点として神経ブロックを画像することと特徴とする末梢神経又は脳神経に対する損傷を画像する方法。

12. 無損傷皮膚および/または骨の下側に位置する注目部位に位置する充実性腫瘍組織を画像するに当たり、
  - (a) 注目部位を電磁放射線の赤外線域で照射し、
  - (b) 注目部位のビデオ信号を一連のフレームとして得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、
  - (c) 注目部位に隣接する血管内にボラス注入により染料を導入し、この染料が前記皮膚および骨組織を経て透過し得る前記赤外線領域の電磁放射線を吸収し、
  - (d) 注目部位の一連のビデオ像を次のフレーム列として時間に対して得るとともにそれぞれ次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
  - (e) 各々次のフレームと処理された平均化制御フレームとを比較して一連の差分像を得、且つ
  - (f) 充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した吸収の証拠として各差分像を比較して腫瘍組織が染料を一層迅速に吸収するとともに一層長く保持することを特徴とする注目部位に位置する充実性腫瘍組織の画像方法。

13. 各要素の吸収の変化度は、
  - (a) 染料により吸収される電磁放射線の波長に対し各要素のベースライン値を決め、
  - (b) 染料を血管に注入し、
  - (c) 電磁放射線の特定の波長に対し要素値の次の列を得、
  - (d) 次の像から第1平均像フレームを差分的に合成して差分像を得、
  - (e) この差分像をアナログ像に重量すること、
 によって比較することを特徴とする請求項12に記載の注目部位に位置する充実性腫瘍組織の画像方法。

## 明 細 書

### 充実性腫瘍、皮膚機能および神経画像

#### 発明の技術分野

本発明は充実性腫瘍組織の長時間検出方法並びに腫瘍組織を等価化し、且つ特徴付ける方法に関するものである。

また、本発明は機能および機能不全大脳皮質および神経組織を長時間マッピングする方法に関するものである。

さらに本発明はかかる方法に対し長時間検出および光学的画像を行う装置に関するものである。

#### 発明の背景

神経外科の第1の目標は正常な領域を温存しながら異常な病理組織を完全に除去することである。従って神経外科医は病理組織または機能不全組織の境界を識別し、言語、運動および知覚のような重要な機能を果たさざる皮質の隣接領域をマッピングすることを試みて、病理/機能不全組織を機能領域を除去することなく検出するようにしている。

原発性の頭蓋内腫瘍の疾病出現率は人口100万当たり50〜150、または年間約18000である(Berens 等、1990年)。この腫瘍のほぼ1/2は悪性である。成人の悪性腫瘍の出現率は40〜55歳台が圧倒的であり、一層悪性腫瘍の出現は35歳近辺がピークである。かかる腫瘍を処置する主な手段は外科的に除去することである。多くの研究によれば全腫瘍組織の大部分を除去する場合には臨床経過(結果)が良好となる。腫瘍を全検出する場合には5年生存率は腫瘍の部分切除に比べて2倍となる。患者の生存状態および復発状態の間隔は、検出の程度が悪性の神経腫瘍で最大となる際に長くなる。現在の手術時の技術は、特に一旦腫瘍の検出が開始されると、正常な脳組織から腫瘍組織を迅速に識別することは、腫瘍組織を手術時に識別し得る可能性を増大する技術を開発することによって組織検出の程度を最大にして生存を長引かせることができる。

米国では年間全身癌で死に至る500,000人のうちのほぼ25%、即ち、125,000

14. 無損傷皮膚および/または骨の下側に位置するCNS内の重要な機能領域または機能不全領域を画像するに当たり、

- (a) 電磁放射線の赤外線域により注目部位を照射し、
- (b) 注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、
- (c) 患者にパラダイムを注入して内在信号を刺激し、
- (d) 注目部位の一連のビデオ像を次のフレーム列として時間に対して得るとともにそれぞれ次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、
- (e) 各々次のフレーム列と処理された平均化制御フレームとを比較して一連の差分像を得、且つ
- (f) 充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した吸収の証拠として各差分像を比較して腫瘍組織が染料を一層迅速に吸収するとともに一層長く保持することを特徴とする重要な機能領域または機能不全領域の画像方法。

15. 各要素の吸収率変化は、

- (a) 染料により吸収される電磁放射線の波長に対し各要素のベースライン値を決め、(b) 染料を血管に注入し、
  - (c) 電磁放射線の特定の波長に対し要素値の次の列を得、
  - (d) 次の像から第1平均像フレームを差分的に合成して差分像を得、
  - (e) この差分像をアナログ像に重量すること、
- によって比較することを特徴とする請求項14に記載の注目部位に位置する充実性腫瘍組織の画像方法。

人以上は頭蓋内転移であると思われる。このグループにおける外科の初期病歴は広域または進行性癌を有していない単一病巣のこれら患者に存在する。しかし、このグループは転移患者のほぼ20〜25% (30,000人)であり、外科手術で良好となる患者の実際の数は極めて僅かである。外科手術を行うこれら患者の半分は手術箇所におけるこれら腫瘍の局部再発であり、残りの半分は他の箇所にも発生するものである。外科手術のほぼ50%が手術箇所で失敗すると云う事実は腫瘍除去中腫瘍の輪郭検出、限局することによってできるだけ充分に腫瘍を除去する可能性が局所再発の発生率を確実に減少することを意味する。

これがため、原発性腫瘍および転移腫瘍の双方に対し、多くの腫瘍組織を抽出し、臨床転帰(結果)が良好となり、生存が長くなる。さらに、切除の程度を最大とすることによって機能的に良好な品質の生存の長さが増大する。

最も最近の腫瘍画像技術は腫瘍の位置に関する情報を外科手術前に得るようにしている。この外科手術前の画像方法は磁気共鳴映像法(MRI)およびコンピュータ断層撮影法(CT)を含む。手術室内では、手術時超音波および定位システムのみによって腫瘍の位置に関する情報を得ることができる。超音波システムによって体表から腫瘍の位置を知ることができるが、一旦手術が開始されると、腫瘍組織を最大に除去しながら、重要な機能組織が破壊されるのを防止する情報を外科医に提供することはできない。進歩した画像技術と結合する定位システムは(選ばれた数箇所の病院では)手術中CTまたはMRI装置に基づき腫瘍境界を限局し得るようにしている。しかし、画像増大された定位の腫瘍が手術前の像に位置する箇所を越えて2〜3cmに亘り実際の腫瘍が存在することは研究(Kelly, 1990年)により示されている。従って、腫瘍の位置を決める現在信頼性のある方法は外科手術中生検に通り(即ち、多重組織サンプリングを行い)且つ凍結切片の顕微鏡結果を持つことである。この場合には外科手術中ブレークを連続的にとることを望まず、かかる生検が最良でも信頼技術であり、サンプリング誤差を受け、およびはば一週間後に得られる永久の組織区分に比べ正しくない検取を行うようになる。これがため外科医は患者の臨床転帰が腫瘍組織の機能的な除去に依存する原の病巣として腫瘍技術にしばしば依存するようになる。外科医は機能的に除去する組織と破壊する周囲の機能組織との境界を決めるのが困難

であり、1週間後までこの処理の実際の臨床転帰を知ることができず、これは対外的手術を必要とする。

多量組織サンプリングも幾つかの欠点を有する。第1に、患者が麻酔状態にある際の外科的措置に対し（取出したサンプルに依存して）ほぼ30～90分を追加することができるため、時間の掛かる措置である。第2に、制癌者が短期間にサンプルを用意し評価するため、この措置に誤りが生じやすい。第3に、境界線サンプルが原発性腫瘍を囲む全ての領域を確実に評価しない場合がある。その理由は残存腫瘍のある区域がサンプリング誤差のため、ミスとなり得るからである。第4に、境界線部サンプリングにかかる時間が増大すると、高価となる。その理由は手術室の時間コストが高くなり、ひいては金医療コストが増大するようになる。さらに、患者に対する手術室の時間が増大すると感染の可能性が増大する。

外科的手術中充実性腫瘍マスの可視性を改善する他の技術は正常組織行性組織組織から可視ルミネッセンススペクトルの形状を決めることである。米国特許第4,930,516号によれば、癌性組織では、正常な組織と比較して種々の異なるルミネッセンス強度のピークで青色に変色する。この方法によれば紫外（UV）光のビームで組織を励起するとともに組織から放出された可視自然ルミネッセンスと同一の組織型からの歴史的制御とを比較する。掛かる措置は困難性を伴う。その理由は腫瘍箇所の実時間空間マップを外科医の使用に供せないからである。さらに、励起波長に対し紫外光を用いることによって、正常なセルに対し光力学的変化を生ぜしめ得るようになり、手術室で使用するのは危険であり、組織に強く浸透し、ガラスの代わりに石英光学的素子が必要とする。

これがため、一層広範囲且つ迅速な技術が必要とし、しかもかかる技術を補助して充実性腫瘍の箇所を限定するとともに外科手術中実時間モードで正確な腫瘍線部をマッピングする装置を必要とする。かかる方法および装置は非腫瘍的処置による任意の充実性腫瘍の高価な評価（例えば乳房造影法）に対しさらに有効であり、腫瘍を等級化し、特徴付けすることができる。

また、神経外科処置中脳の機能を確保する必要もある。例えば、これらの原理を例示する一種の脳外科処置は難治性てんかん（即ち、投薬により制御し得ないてんかん）の外科的処置である。現在、脳波検査（EEG）技術および皮質脳波

検査（ECOG）技術を外科手術前および中に用いて、てんかん病巣のような異常活動の区域を識別するようにしている。これらの手段によって脳の電気的な活動を直接測定するようにしている。

手術中のEEG技術には皮質の表面に電極アレイを設けることも含まれる。これはてんかん発作の発生の異常な皮質活動を限定するために試みられた。EEG技術が広く用いられるようになっていっても危険および制限がこれら技術に関連するようになる。電極表面の大きさおよびEEG技術における電極間の距離はてんかん病巣を有する脳セル（例えばニューロン）の大きさに対して大きくなる。これがため、現在の技術によって異常な皮質活動の区域の空間解像度（ほぼ1.0cm）が乏しくなる。更にEEG技術によっては（患者がスピークする脳電気の活動を記録することによって言語機能、運動機能および知覚機能に寄与する皮質領域を識別し得るような）外部刺激に反応して正常な皮質機能のマップを提供しない。皮質誘発電位と称されるこの技術の変形によってある機能的マッピングを提供することができる。しかし、この皮質誘発電位技術にはEEG技術と同様の解像度の問題がある。

てんかんおよび腫瘍外科手術における皮質機能の手術中極限の最も普通の方法は刺激電極によって皮質表面を直接電気的に刺激することである。この技術を用いることにより外科医は身体の特定の部分から観察された運動応答を誘発するかまたは覚醒した患者の場合には特定の感覚を発生させるか、または患者の音声出力に中断を生ぜしめることを試みる。さらにこの技術によればEEG技術と同様の問題が生じる。その理由はこれにより機能の粗い空間的極限のみを行うからである。

これら技術全部の正確性の可能な結果は、患者の難治性てんかんに対し応答可能な皮質の部分を識別するために用いる際、皮質組織の必要以上の量が確実に除去されて機能欠陥患者ができるか、または組織が十分に除去されないで外科手術により治癒しない患者ができるようになる。これらの不適切にもかかわらず、かかる技術は難治性てんかんに対する許容し得る処理であると思われる。しかし、同様の原理を腫瘍の外科手術に適用しても手術中の機能マッピングを日常的に行う訳にはいかない。

過去数年来、研究者は動物モデルにかかる画像技術を用いて高い空間的解像度で皮質の機能領域を識別するようにしている。かかる技術の1つの型は電圧-感応染料を用いる。この電圧-感応染料はニューロン細胞の電気的活動の変化中にその光学特性が変化する染料である。これら技術によって達成される空間解像度は単一セルレベルに近い。ブラスデル（Blasdel）およびサラマ（Salama）（ネイチュア321:579, 1986年）は電圧-感応染料を用いて脳のモデルで皮質機能をマップした。この種の染料を使用するその毒性のため人間に使用するには危険が大きすぎる。さらに、かかる染料は光により漂白されるとともにしばしば注入することができる。

最近、電圧-感応染料画像と同様の空間解像度を提供する内在信号の測定が示されるようになった。これら内在信号はニューロン活動の変化によって部分的に生じる皮質の組織変化を反映する光である。ニューロン活動を画像するため、即ち、内在信号を画像するために用いる同様の他の技術は（臨床的使用に対しては中絶になり過ぎる）染料またはラジオアクチブラベルを用いることを必要としない。例えば、グリンバルト（Grinvald）等（ネイチュア324:361, 1986年）は電気または代謝活動に反応して組織の反射測定によって皮質組織の光学特性の真性変化を測定する。また、波長500～700 nmの光は高いニューロン活動の領域に流れる増大した血液のため、活性組織および不活性組織間で異なって反射する。内在信号に寄与する他の要因はオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比の変化である。

ツツ（Ts'o）等（サイエンス249:417, 1990）は電荷結合装置（CCD）カメラを用いて脳のモデルで内在信号を検出するようにしている。しかし、この技術は臨床的環境において実用的でない。その理由は頭蓋内にステンレススチールの光学室を埋設することにより画像が行われており、且つ充分な信号対雑音比を得るために、ツツ（Ts'o）等は僅当たり30分以上の時間隔期に亘って像を平均化している。皮質機能を極限化する他の既知の技術全部と比較することにより内在信号の画像は相対的廉価な技術である。

内在信号に反応し得る機構は十分に理解されていないが、内在信号の可能なソースは小血管の拡張、即ち、カリウムのニューロン活動に依存する解離から、ま

たはニューロンおよび/または神経膠細胞の細胞からの光の増大した散乱を含む。

これがため、従来は、正常および異常皮質組織を精密且つ迅速に識別し得る皮質組織を実時間光学的に画像する装置および装置を必要とする。また、従来は、高い空間的解像度で内在信号を画像し得るとともに直ちに像を提供し、且つ手術室における通常の位置と両立し得る方法を必要とする。

本発明は部分的にかかる必要性を満足せんとするものである。

#### 発明の概要

本発明方法および装置は、染料の組織を通る溜滞のダイナミクスを反映する電磁吸収の変化を画像することにより充実性腫瘍を識別し、等級付けし、特徴付けするために用いることができ、この際本発明装置は染料溜滞中光学信号のダイナミック変化を有する周囲の正常な組織から腫瘍組織を識別することができる。さらに、本発明方法および装置は神経外科処置中ニューロン活動領域を識別するために用いることができる。特に、この発明は視覚、運動、感覚、記憶および言語のような重要な機能をつかさどる領域を識別するために手術中の神経外科医が利用できる。さらに、本発明方法および装置を用いて、てんかん病巣のような異常な皮質活動領域を検出することができる。最後に、本発明を用いて腫瘍除去または重度神経病変に対する神経外科処置中個別の神経を識別することができる。

本発明はアナログビデオ信号列を得る手段、このアナログビデオ信号を処理して平均化制御像又は次の平均化像を得る手段、複数の次の像および平均化制御像を得るとともに解析して差分像を得、この差分像を処理して動きおよび位置を計数し装置のダイナミック範囲を換切る変化を増幅する手段、および差分像のみ、またはアナログビデオ像上に重畳された差分像を表示する手段を具えることにより、腫瘍組織を画像する装置、または皮質内在信号を実時間外科手術中に画像し、または染料の溜滞中光学信号のダイナミック変化から充実性腫瘍組織の輪郭を可視化する装置を提供する。

さらに本発明によれば、染料により吸収される電磁放射線（例えば光）の波長を含む特に強力な変動のない電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のビデオ信号をフレーム列として得るとともにこのフレーム列を処理して平均化制御像を得、注目部位に隣接する血管内にボラス注入により染料を導入し、注目部

位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ充実性腫瘍組織の輪郭である注目部位内の変化した光学信号の初期証拠として各差分像を比較して、腫瘍組織が正常な組織と比較された染料摂取の種々の異なる運動エネルギーと充実性腫瘍組織の増大した血管分布の結果として光の変更された吸収の一時的な変化的パターンとによって特徴付けられるようにして、注目部位に位置する充実性腫瘍組織の腫瘍輪郭および大きさを検出する方法を提供する。適切な染料としては

インドシアニン、フルオレセイン、ヘマトポリンおよびフルオレスカミンがある。好適な染料はインドシアニングリーンであり、これは広い吸収波長範囲および730 nm～840 nmの範囲のピーク吸収を有する。

さらに本発明によれば、患者の皮膚の重要な機能領域を光学的に検出するに当たり、電磁放射線の近赤外線を含む高強度の電磁放射線により注目部位を照射し、注目部位のフレーム列を得るとともにこのフレーム列を処理して平均化された制御像を得、患者に刺激性パラダイムを注入して内在信号を刺激し、注目部位の一連の次のフレームを時間に対して得るとともに次のフレーム列を処理して次の平均化像を得、各々次の平均化像と平均化制御像とを比較して一連の差分像を得、且つ

注目部位内の内在信号の初期証拠として各差分像を比較して内在信号が差分像の信号として表される電磁放射線反射特性の変化によって特徴付けられる患者の皮膚の重要な機能領域の光学検出方法を提供する。

さらに本発明によれば、末梢神経又は脳神経に対する損傷を検出するに当たり、(a)損傷の疑わしき箇所およびこれに隣接する領域を含む重要な末梢神経を具える注目部位を高強度の電磁放射線に照射し、(b)注目部位の一連のフレームを得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、(c)損傷の疑わしき箇所に隣接する箇所の末梢神経又は脳神経を刺激し、(d)刺激時にフレームの次の列を得るとともにこれらフレームの次の列を処理して次の平均化像を得、(e)次の平均化像から平均化制御像を減算して差分像を得て末梢神経又は脳神経の活性領域を可視化し、これにより、刺激された神経からの内在信号が

れ形成し、(g)第2の差分像に対する第1の差分像の比をとることにより増強された差分像を得るようにする。注目部位を照射する単色電磁放射線源はレーザ光源とするのが好適である。この技術を用いて注目部位の3次元情報を得ることができる。

#### 図面の簡単な説明

図1は1つの記録(r)と、2つの刺激電極(s)と、変位度が決まる3つの箇所(#1, #2, #3)とを有する前面運動皮膚の直前の人の皮膚を示す。スケールバーは1 cmである。128回の像(1/秒)の平均は30 Hzで得られ、且つ記憶される(1/秒)。3～5回の平均化制御像(5秒/像)を得た後、両極皮膚刺激によって発生波のてんかん活動を誘発した。

図1Aは1つの記録(r)と、2つの刺激電極(s)と、これら領域全体に亘る吸収の変位度が決まる4つの箇所(4角枠で囲んだ領域1, 2, 3および4)とを有する前面運動皮膚の直前の人の皮膚を示す。皮膚は電磁放射線>690 nmで照射した。スケールバーは1 cmである。

図1Bは図1Aに示す4角枠1および3の空間領域における電磁放射線吸収の変位度(毎秒)をプロットして示す。両領域に対し、ピーク変化は最大量の刺激電流が誘発された4つの刺激試行(8 mA)中最も長いてんかん発生後の活動である。4角枠3内の変位度は4角枠1内の変位度よりも大きく且つ一層長かった。4角枠3はてんかん発作領域(患者のてんかんに対し応答可能な組織の活動可能な領域)上に位置していた。

図1Cは図1Aに示す4角枠1および4の空間領域における電磁放射線吸収の変位度(毎秒)をプロットして示す。4角枠1は2つの刺激電極間の皮膚組織の領域上に位置し、4角枠4は血管上に位置する。4角枠4内の変位度は4角枠1よりも充分大きく、その反対方向にある。また、これらの変位度は刺激電流およびてんかん発生後の活動の大きさによって等級化される。4角枠4内の変位度は血管内の血流速度の変化に著しく依存するため、このプロットは本発明が皮膚活動および血流を同時にモニタし得ることを示す。

図1Dは図1Aに示す4角枠1および2の空間領域における電磁放射線吸収の変位度(毎秒)をプロットして示す。これら2つの領域が互いに近接しているに

急激に増減するか、または差分像に変換され、減算されるかまたは減少される神経の箇所に向かう点として神経ブロックを可視化するようにした末梢神経又は脳神経に対する損傷を検出する方法を提供する。

また、本発明によれば、神経組織を囲む、即ち、これに隣接する腫瘍組織を検出して神経組織を破壊することなく腫瘍組織を選択的に抽出するに当たり、(a)染料によって吸収された電磁放射線の波長を含む高強度の電磁放射線によって注目部位を照射し、(b)注目部位の一連のフレームを得るとともにこれらフレーム列を処理して平均化制御像を得、(c)神経を刺激し、(d)一連の次の神経フレームを得てこれら次の神経フレーム列を処理して神経の次の平均化像を得、(e)神経の次の平均化像から神経の平均化制御像を減算して神経の差分像を得て活性神経を可視化し、(f)注目部位に給血する動脈に染料を導入し、(g)一連の腫瘍の次のフレームを得るとともにこの一連の腫瘍の次のフレームを処理して腫瘍の次の平均化像を得、(h)腫瘍の次の平均化像から腫瘍平均化制御像を減算することにより腫瘍の差分像を得て腫瘍を可視化し得る腫瘍の差分像を形成するようにして腫瘍組織検出方法を提供する。さらに腫瘍の差分像および神経の差分像を互いに重畳して腫瘍組織および神経組織の相対位置を同時に可視化することができる。

また、本発明によれば、腫瘍組織から得た像または内在信号差分像の感度およびコントラストを増強するに当たり、(a)少なくとも電磁放射線の第1波長および第2波長を含む放射線の複数の波長により注目部位を照射し、(b)電磁放射線の第1波長から得た第1フレーム列および電磁放射線の第2波長から得た第2フレーム列等を含む電磁放射線の各波長に相当するフレーム列を得、(c)第1フレーム列、第2フレーム列等を処理して第1平均化制御像、第2平均化制御像等を形成し、(d)内在信号を刺激するかまたは腫瘍組織像に対する染料を導入し、(e)電磁放射線の第1波長を用いる第1列の次のフレーム、電磁放射線の第2波長を用いる第2列の次のフレーム、等を得るとともに第1、第2等の次のフレーム列を処理して第1、第2等の次の平均化像をそれぞれ形成し、(f)第1の次の平均化像、第2の次の平均化像、等から第1の平均化制御像、第2の平均化制御像、等をそれぞれ減算して第1の差分像、第2の差分像、等をそれぞ

もかわらず、これらの光学的変化は6 mAの電流を用いる最初の3つの刺激試行中反対方向にある。4角枠2の領域内の負に向かう変化は本発明を用いて皮膚活動および活動の禁止をモニタすることができることを示す。

図2は刺激誘起てんかん活動の空間マップを示す。この図2には皮膚活動の程度で等級化された光学変化の空間程度および幅の両方に対する種々の異なる活性度間の比較を示す。特に、図2は図1に示す刺激試行(刺激試行の定義は図1の記載で示す)のうちの2つの刺激試行中の種々の回数からの差分像を示す。上側の3つの画像(A2, B2およびC2)は、6 mAの電流による皮膚刺激が誘発された刺激試行2からてんかん後発生の主期間である。これら画像を刺激試行4から8 mAで皮膚刺激によって誘発された光学変化を示す下側の画像と比較する。図2、A2およびA4は休息中の制御像と比較する。図2、B2およびB4はてんかん後発生活動中に発生するピーク光学変化と比較する。図2、C2およびC4はピーク光学変化が観察された後20秒で回復する程度と比較する。光学変化の大きさは図の中央のグレースケールバーによって示す。グレースケール近くの矢印は幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮膚の領域を示す。

図3は活性領域およびてんかん発作病巣を識別する光学信号の一連のダイナミック変化を示す。図3には図2の図に示される刺激試行2からの8つの差分像を示す。各像は2秒間隔で撮られる。最大の光学変化の病巣領域は、像3、4および5の中心において、最大の皮膚活動の領域を示す。この領域画像でてんかん病巣である。光学変化の大きさは図の右側にグレースケールバーで示す。グレースケール近くの矢印は幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮膚の領域を示す。

図4は人の皮膚における刺激誘発光学変化のダイナミック変化の長時間シーケンスを示す。図4のパネル1～8は各々が8フレーム(<1/4秒/像)の平均値である8つの連続する差分像像を示す。光学変化の大きさは図の中央にグレースケールバーで示す。グレースケール近くの矢印は幅が増大する方向を示す。各像はほぼ4 cm×4 cmの皮膚の領域を示す。この図は、本発明装置および方法を用いて光学変化のダイナミクスを長時間でマップするとともに情報量

の多いフォーマットでかかる情報を外科医に知らせることができる。

図5は麻酔をかけられた鼠の末梢神経の刺激による体性感覚皮質の活性(鼠の後肢の痛痒神経を直接刺激することによる導入知覚入カ)を示す。最左側の像は麻酔をかけられた鼠の後肢体性感覚のグレイスケール像である。他を充分高くして個別の毛細血管が識別されるようにする(この像には最小の血管が見える)。中央の像は休息中の差分差制御光学像の像である。光学変化の大きさはこの像の中央にグレイスケールバーで示す。グレイスケール近くの矢印は距離が増大する方向を示す。最右側の像は痛痒神経の刺激中、後肢体性感覚皮質の光学変化の差分度マップである。

図6は人の言語領域(Broca's area)並びに寛解した患者の舌感覚および口蓋感覚領域の機能のマッピングを示す。3つの「舌運動」試行中像は平均化され(32フレーム、1秒)、2秒毎に記録される。舌運動試行は、休息中5つ〜6つ像を得るとともに患者が口の上蓋に対し舌を運動し、次いで回復期間中像を得続ける必要があることを40秒間示像を得ることにある。同一の患者は「言語ネーミング」試行でも同様のことを行う。言語ネーミング試行は休息中の5つ〜8つの像(制御像—患者は一連の空白スライドを沈黙して見る)を得、次いで(Broca's area)領域で大きな応答を誘発するように選択された2秒毎のスライドプロジェクタにより存在する一連の物体をネーミングする)ネーミングパラダイムで患者が同様のことを行う時間周期中の像を得るとともに最終的に(再び沈黙しながら空白のスライドを見る)ネーミングタスクを患者がやめる際の時間に続く回復期間中一連の像を得ることである。像A1およびB1は人の皮質の領域のグレイスケール像であり、左側は前部、右側は後部、上側は頂部、下側は底部外側面である。像A1、B1、A2およびB2の2つの屈印はこれら像間の基準点である。像A1およびB1の下側右側のスケールバーは1cmとする。像A1において、番号を付した4角枠は電気刺激電極による皮質刺激によって口蓋微振動(1)、舌振動(2)、音声停止—Broca's area(3、4)および無応答(11、12、17、5—前運動)を誘発する箇所を示す。像A2は1つの舌運動試行の休息中の皮質の差分差制御像である。像A2の右側のグレイスケールバーは像A2、A3、B2およびB3に関連するカラーコードの相対的な大きさを示す。像A3は1つ

の舌運動試行中に発生するピーク光学変化の差分度マップである。皮質刺激により舌および口蓋感覚領域として識別された領域は大きな正の変化を示す。周囲領域においてベースライン値を抑制することは1つの舌運動試行中言語—運動領域が負に向かう光学信号を示すことを表す。像B2は1つの言語ネーミング試行中の皮質の差分度制御像である。像B3は言語ネーミングタスク中の皮質のピーク光学変化の差分度像である。大きな正に向かう信号はBroca's area領域に存在する。負に向かう信号は舌および口蓋感覚領域に存在する。

図7は舌および口蓋感覚領域およびBroca's area領域で誘発された人の皮質のダイナミック光学変化の時間コースおよび大きさをプロットして示す。この図7には、3つの舌運動試行の各々および1つの言語ネーミング試行中図6に示す4角枠で囲まれた領域、即ち、像A1およびB1ないの組織の光り吸収の変化度をプロットして示す。図7Aは3つの舌運動試行中図6で示される4角枠1、2、3および4内で空間的に平均化された像A1をプロットして示す。図7Bは4角枠1〜7および17内で空間的に平均化された言語ネーミング試行の1つを示す。

図8は寛解した人の言語理解(Wernicke's area)に重要な皮質領域の光学マップを示す。図8の像Aは患者の皮質表面を示し、その解剖学的指向は左側が前部、下側が下部、上側に沿って外側面が走っている。光学像像後太いラインの左側の皮質組織全部は外科手術的に残存している。図8の1および2は音声に対する本質的なもの(例えば、ネーム物体に対する液体の皮質刺激のブロックされた可能性)として識別される。図8の3では3つの刺激試行における1つのネーミング誤差を見いだした。外科手術的損傷が太いラインの屈印でラベルされた領域に到達すると、患者の言語は劣化する。図Aのラベルを付していない箇所全部は誤りは無いが皮質刺激中スライドをネーミングする。図8の像Bは言語ネーミング試行中に得られた皮質のグレイスケール像の差分度像のオーバーレイを示す(言語ネーミング試行を説明している図6参照)。光学変化の大きさはこの像の右側にグレイスケールバーで示す。この像は外科医がこの発明を手術に用いて言語皮質をマップする手段を示す。

図9はWernicke's area(言語理解)で誘発された人の皮質のダイナミック光学変化の時間コースおよび大きさを示す。図9Aには図8に示す4角枠で囲まれ

た領域内の組織の光吸収の変化度をプロットして示す。4角枠1および2のプロットは本質的な言語箇所上に位置し、4角枠4、5および6は第2言語箇所上に位置する。これら5つの箇所各々の表示は患者が言語ネーミングタスクを行っている間に発生した著しい変化を示す。図9Bは図8に示す6つの番号を付していない4角枠からの変化度を示す。これら箇所箇所内では充分な増減はない。

図10は低い等級の人のCNS腫瘍を識別する染料の差分ダイナミクスを示す。この像例は低い等級のCNS腫瘍(星状細胞腫、等級I)を有する患者から得たものである。図10A(上部左側)において、外科医により脳上に置かれた文字ラベルは超音波によって手術中に確認された腫瘍上に位置している。しかし、この腫瘍および等級の腫瘍は一旦腫瘍の外科的除去が開始されると正常な脳組織から識別するのが極めて困難である。図10B(中央左側)には染料(インドシアニグリーン、1mg/kg)の静脈注入後15秒経過した差分像を示す。図10C(下部左側)には、染料導入後は30秒経過した差分像を示す。腫瘍組織の領域は第1の組織染色を示す。図10D(上部右側)には、この低い等級の腫瘍において、全ての組織(正常な組織および異常な組織の双方)が染料導入後45秒で染色されることを示す。図10E(中央右側)は染料導入後1分経過した場合には示し、図10F(下部右側)は染料導入後5分経過した場合を示す(この低い等級の腫瘍では完全なクリアランスを示す)。これらのデータは、インドシアニグリーンが正常な脳組織よりも迅速に低い等級の腫瘍に導入され、且つ正常な組織よりも良性的腫瘍組織からクリアランスするのに時間がかかり、従って低い等級の腫瘍でも腫瘍で、従って、周囲の正常な組織から低い等級の腫瘍組織を手術中に識別することができる。

図11は染料の差分的ダイナミクスによって悪性の人CNS腫瘍を識別する場合を示す。図11の一連の像は悪性のCNS腫瘍(膠芽細胞腫、星状細胞腫、等級IV)を有する患者の皮質から得たものである。図11A(上部左側)はグレイスケール像を示し、この際、悪性の腫瘍組織は中央および右側に著しく密集し、その他の箇所は(外科的手術後1週間が得られる病理スライドおよび血液流計算によって示されたように)大部分正常な組織であった。図11B(中央左側)はインドシアニグリーンの静脈注入後15秒経過した差分像であり、悪性の組織にお

ける最初の数秒の染料濃度のダイナミクスを示すことは良性的腫瘍組織の最初の数秒の染料濃度のダイナミクスと同様である(図11C参照)。図11C(下部左側)は30秒経過後の悪性の腫瘍が正常な組織と比較によっても一層著しいことを示す。図11D(上部右側、染料注入後1分)および図11E(下部右側、染料注入後10分)は悪性の腫瘍組織と同様に、悪性の腫瘍組織において、染料を充分長期に保持し、ある場合には長時間周期に亘って悪性の腫瘍組織に滞留し続けることを示す。これらのデータは悪性の腫瘍組織を確認し、正常な組織および悪性の腫瘍組織を手術中に識別し、且つ腫瘍の種々の等級(例えば、正常対良性対悪性)を識別し得るようになることを示す。

図12は染料の差分ダイナミクスが抽出された悪性の人CNS腫瘍の輪郭部における腫瘍組織の僅かな残存物を確認する場合を示す。これらの像は、腫瘍が外科手術的に抽出され、試験切除が多重組織輪郭サンプリングに対して与えられた注目部位から得たものである。注目部位は腫瘍の外科手術的除去後腫瘍組織を存在しなかった。通常は、この大きさの抽出部位においては、単一の冷凍サンプルを病理診断用に採取する。研究の目的で、本発明により得られたマップによって組織を相関するために前記部位から5つの試験切除を行う。図12A(上部左側)は腫瘍輪郭部のグレイスケール像を示す。図12B(上部右側)は外科医が脳に直接設置したラベルを有する像を示す。これらラベルの目的は、外科医が差分像が本発明装置により得られた後組織診断用の試験切除サンプルを除去しようとすることを確認するためのものである。図12C(下部左側)は染料の静脈内注入後1分経過した差分像を示し、図12D(下部右側)は染料注入後10分経過した差分像を示す。これら染料注入後の差分像は腫瘍組織および正常な組織の領域を含む多数の判断箇所を示す。光学像像の精度は試験切除の解析によって手術後に確認される。図12Dの下方右側の僅かな領域は外科医によって試験切除されていない腫瘍組織の可能な領域を示す。従って、広範囲な試験切除の場合でも、サンプリング誤りは本発明の精度以上となる。これらのデータは腫瘍抽出後の腫瘍輪郭部に腫瘍の僅かな残存物が確認され得ることを示す。

図13はMR1像像によるコントラストが増強されない患者の腫瘍を確認し且つ特徴づけることができる場合を示す。良性でない腫瘍の構造は現在のMR1像

像技術では観察されない。この図13の像は腫瘍のコントラストがMRIによって増強されない患者から得られたものである。かようにコントラスト増強ができないのは過剰な典型的な良性の腫瘍に対してである。しかし、光学的な画像はこの腫瘍を良性でない癌（肉腫および血成の血球計算によって1週間後に示される肛門管癌（肛門癌））として確認することができる。図13Aは注目部位のグレースケール像を示す。図13Bは染料注入前の差分像を示す。図13Cは静脈内染料注入後1分経過した注目部位を示し、図13Dは染料注入後5分経過した重要な注目領域を示す。この場合染料はこの組織に十分な時間に見て保持される。図10、11および12に示すように、このダイナミックな特性は良性でない腫瘍の特徴である。

図14は無損傷領域に基づく神経腫瘍の染料によるダイナミクスおよび確認の非観血像を示す。この図14は本発明を用いて無損傷領域による腫瘍を確認し得ることを示す。図14Aは鼠の頭蓋表面のグレースケール像である。縫合は像の中央を走っている。腫瘍細胞が数日前に左側に注入され、従ってこの鼠はその脳の左側半部に神経腫瘍が発生する。右側半部は正常である。4角枠1は脳の腫瘍の発生領域上に置き、4角枠2は正常な組織上に置く。図14Bはインドシアニンググリーン染料が鼠に手術中に注入された後1秒経過した差分像である。腫瘍組織を含む領域は無損傷領域を経て直に見え得るようになる。図14Cは染料注入後5秒で染料が正常な組織および腫瘍組織に充満していることを見ることができ、図14Dは、染料注入後1分経過して正常な組織が染料を清浄にするが、染料は腫瘍組織にまだ保持されている。この差分像中心の染料の濃度は縦軸で階層する染料である。

図15は無損傷領域を越える腫瘍組織対非腫瘍組織における染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を説明する。この情報は図14Aから4角枠1および2により示される空間領域全体に亘る電磁放射線吸収平均の濃度度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の関数である。グラフ「頭蓋外腫瘍」は図14Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示し、グラフ「頭蓋外正常」は図14Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。

図16は鼠神経腫瘍モデルにおける腫瘍組織対非腫瘍領域のダイナミック変化の

空間マップを示す。図16の一連の像は腫瘍組織および非腫瘍組織間の染料による吸収変化のダイナミック変遷を映す。図16Aは注目部位のグレースケール像を示す。これは図14に示す鼠と同一の鼠の像であるが、頭蓋は神経腫瘍を含む左側半部を露出するために除去するが右側半部には正常な組織が含まれている。4角枠1は腫瘍上に置き、4角枠2は腫瘍の周囲に置き、4角枠3は正常な組織上に置く。図16Bは1mg/kgのインドシアニンググリーンが鼠に静脈注入した後1秒経過した注目部位の差分像を示す。この初期時間中、腫瘍組織はまず染料の取込みが腫瘍組織に生ずることを表わす測定可能な光学的変化を最初に示す。グレースケールバーは差分像の列の光学的変化の相対的な大きさを示す。図16Cおよび図16Dは染料注入後それぞれ4秒および30秒経過した注目部位の差分像を示す。これらの中間段階では染料は正常組織および腫瘍組織の双方に集まる。図16Eおよび図16Fは染料注入後それぞれ1分および5分経過した注目部位の差分像を示す。これら後者の時間では染料は、これが正常組織から清浄になっていくも、いまだ腫瘍組織に集まっている。

図17は腫瘍組織対非腫瘍組織における染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図16Aから4角枠1、2および3により示される空間領域全体に亘り平均化された電磁放射線吸収の濃度度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の関数である。グラフ「腫瘍組織」は図16Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示し、グラフ「正常な脳」は図16Aから得た4角枠3内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。

図18は切除された腫瘍組織の腫瘍細胞の残留痕跡を表わす染料取込みのダイナミック像を示す。これは図14~17に示す同一の鼠での研究の継続である。図18Aは腫瘍が切除された後の鼠の左側半部の高倍大像を示す。4角枠1は残留腫瘍細胞の僅かな痕跡を含む領域上にあり、4角枠2は正常な組織のみを含む領域上に位置する。グレースケールバーは差分像の光学的変化の量を示す。図18B、図18Cおよび図18Dは静脈内染料注入後4秒、30秒および60秒経過した腫瘍組織の差分像をそれぞれ示す。微細な生検は好適な染料含有を示す領域からおよび染料が急速にクリアされた領域から採取する。これらの生検は分析し、後に生検が探

取された箇所と照合する。染料がクリアされた領域から採取した生検は正常な細胞のみが含まれることを示し、染料が滞留した領域から採取した生検は腫瘍細胞が含まれることを示す。残留した極めて僅かな部分は腫瘍組織内でマップすることができる。

図19は腫瘍組織対非腫瘍組織での染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図18Aから4角枠1および2によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の濃度度の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の関数である。グラフ「腫瘍組織」は図18Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示し、グラフ「腫瘍正常」は図18Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。このデータおよび図18から得たデータは本発明装置および方法によって極めて高い空間および時間解像度で腫瘍組織内で非腫瘍組織から腫瘍組織を識別し得ることを示す。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明は実時間でニューロン内在信号を撮像するとともに染料を用いる充満性腫瘍体の存在、大きさ、経路、元および等級を決める装置を提供する。さらに本発明は実時間で内在信号をマッピングすることにより患者の皮質を機能的にマッピングする方法、生検のサンプリング頻り、または、例換者の連結切手解析の遅延および可能な診断を行うことなく、実時間で充満性腫瘍組織の存在、大きさ、位置および等級付けを決める方法、および腫瘍細胞によって物理的に損傷を受けるか、または腫瘍細胞によって囲まれ、且つこれに隣接し得る神経組織を撮像する方法を提供する。本発明方法は、ビデオ入力ハードウェア処理ハードウェアを含む一連の構成要素を見る同様の装置を用いる。ビデオ入力ハードウェアは例えばCCD（電荷結合装置）カメラのような光検出器（好適にはCOHUEレトロフラスサンディエゴCA社製のCOHUE6500電子制御ボックスを有するCOHUE6510CCD単色カメラ）とする。あるカメラでは、アナログ信号をAD1ボード（アナログ-デジタルボード）で8ビット用にデジタル化する。画像処理ハードウェアは一般に「ホストコンピュータ」によって制御する。このホストコンピュータは、（インテル386、486、または良好なマイクロプロセッサ、即ち

、Sun SPARCを有するIBM PC型のような）任意の共通汎用コンピュータとする。このコンピュータは撮像ハードウェアでインターフェースされ、且つデータ流、計算、像取込み等を管理する撮像ハードウェアに命令をだす。これがため、ホストコンピュータによって撮像ハードウェアの操作を管理し、ユーザインターフェースを提供する。

#### 詳細

次に示すものは、共通に使用される項目の定義であり、イノウェ、「マイクロコピー」プレナム プレス、ニューヨーク、1989年に記載されているように、そのアート アクセプテッド 処理法に従って本願に適用する。

**注目部位**は像のサブジェクトを具える組織の領域である。

**画像処理演算装置（ALU）**は像信号で多数の算術論理演算（例えば、和、差、積、または定数乗算等）を極めて高速で行うハードウェア素子である。**平均化制御像**はある時間間隔に亘る実時間像列の平均値である更新可能な像である。

**電荷結合装置（CCD）**は小型ビデオカメラの撮像管に用いられる光感応シリコンチップである。

**差分像**は平均化制御像から同時に次の像または特定の像を加算または減算することによって形成された撮像可能な像である。

**フレーム**は単一ビデオ画像の単一デジタル化アレイである。

**フレームバッファ**は平均化制御像、次の像または差分像のような1フレームの任意の記憶として作用するハードウェアの一部である。

**幾何学的変換**（GonzalezおよびWintz 著、「デジタルイメージ処理」、Addison-Wesley Publishing Co., Reading, 1987）によって一般に像の画素間の空間関係を修正する。この理由で幾何学的変換はしばしば「ラバースト変換」と称されている。その理由はこれら変換をラバースト上に像を「プリント」し且つあらかじめ規定された規則に従ってこのシートを伸張するからである。ビデオ像に適用する際、次の像は動きのために歪んだものとしてみることができ、これら像を「ワープ」してこれらが制御像と同様となるようにする必要がある。幾何学的変換は、点変換によって画素値および/または位置にのみ基づく像の画素値を各

## 特表平7-507472 (8)

の注目のダイナミクスを増大して注目の領域のイベントを示すように処理された行の差分像である。

腫瘍縁部は外科医が腫瘍を摘出した箇所の領域である。

### 装置

本発明装置は1つのユニットまたは1群の構成要素として形成する。第1の構成要素は高強度電磁放射線源である。この放射線源によって実質性腫瘍組織を有するものと増大される部位のような皮質表面、即ち、注目部位を照射する。種々の異なる内在信号は電磁放射線の種々の異なる波長によって照射することができる。さらに、電磁放射線源は腫瘍検出方法用の染料によって吸収される電磁放射線の波長を含む必要がある。例えば、染料をインドシアニンググリーンとする場合には、好適な波長は約730 nm乃至約840 nmとする。他の染料に対しては、電磁放射線を照射する好適な波長は染料が吸収される波長を含むようにする必要がある。光の代わりに電磁放射線を用いることができる。その理由は可視光範囲の外側のスペクトルの紫外領域で検出することからである。

皮膚から内在信号を決める場合には、反射された電磁放射線はフィルタ処理して電磁放射線の選択された波長のみのビデオ画像を行うことができる。電磁放射線の好適な選択波長は例えば500 nm乃至900 nm、さらに好適には近紫外スペクトルを含む。一般に、一層長い波長（例えばはば800 nm）はによって一層深い皮膚活動を測定する。

さらに、0.75乃至1000  $\mu$ mの不可視領域の紫外線スペクトルの部分によって頭骨および硬膜を透る内在信号を決め、これにより無痛の硬膜および頭骨を透、且つ神経外科に関連する危険性なく内在信号を決めるようにする。遠紫外線波長のこの範囲を用いる場合には1 R検出器は可視アナログカメラのCCDチップ以外の他の装置とする。1 R検出器は酸化インジウムと、シリコン以外のテルル化ガリウムおよび水銀カドミウムのような材料から造る。1 R検出器はこれらが僅かな温度変化に感応するように低温冷却する必要がある。例えば、ある1 R検出器はIRC-64赤外線カメラ（シンシナチ エレクトロニクス、メイソン OH）とする。

熱が皮膚の表面に到達すると、皮膚ははば3-5  $\mu$ mまたは8-14  $\mu$ mの範囲

正するとともに他の画素値が変換に含まれないと云う点で“点変換”とは区別する。

像はフレームまたはフレーム列を処理して平均化制御像または次の平均化像を形成するようなデジタル化後に変換されたフレームの組合せである。

内在信号は内因性組織活動による神経組織の反射特性の検出可能な変化である。内在信号の主原因は例えば細胞光解消、神経細胞膜電位、ニューロン膜間のイオン束、血液容積変化、血液還元（ヘモグロビン対還元ヘモグロビン）、組織還元およびその組合せを含む。

線形ヒストグラム伸張は2つの点（高、低）間の値をマップして完全な範囲の値（即ち、ダイナミック範囲）をカバーする変換である。例えば、低い値は零にマップし、高い値は255にマップし、中間の値は輝度値を線形に増大するようにマップする。低い値以下のすべての輝度値は零に設定し、高い値以上のすべての輝度値は高い値に設定する。

ルックアップテーブル（LUT）は各画素のグレー値を他のグレー値またはLUTによって特定されたカラーに変換するように管理されたメモリを管理するように機能するハードウェアの一部である。LUTは（点処理アルゴリズムの慣例の実現方法のように）像のコントラストを処理し、像をしきい値化し、類似カラー等を適用するようにプログラムすることができる。本発明の場合には、LUTはAD1および/またはALUボードで速度に対して好適に実現する。

パラダイムによって特定の機能（例えば音声、言語、視覚等）をつかさどる皮膚組織の領域の電気的活動を変化せしめて内在信号と称されるものを増強させるようにする。

画素はデジタル化信号の各フレームにおける増減の個別のユニットである。各画素の強度は信号処理前の照度の強さに正比例するとともに特定の画素に相当する組織の特定の領域から反射された電磁放射線（光子）の量に相当する。像の画素はデジタル画像の最小のユニットであり、その出力強度は任意の値とすることができる。CCD画素はCCDチップ上の最小の検出要素であり、そのアナログ出力はこれが検出される光子の数に正比例する。

処理された差分像は検音または運動をフィルタ除去するとともに種々の画素値

の電磁放射線を放出する。この放出された放射線を検出することも試みられた（例えば、ゴルバック等による“脳皮質の赤外線マッピング”サーモグラフィ3:108, 1989参照）。しかし、本発明によればこれら放出された波長をフィルタ処理し、且つCCD検出器の代わりに1 R検出器を用いる。1 R電磁放射線源は例えばレーザフォトリクス、オランダウ、P1から問題可能な1 Rダイオードレーザとする。検出された波長は体熱および吸収変化の像とは異なり、電磁放射線検出は本発明方法により得ることができる。無損傷皮膚および可能に骨を透る腫瘍像の場合には、1 Rに吸収される染料（例えば、インドシアニンググリーン）を用いることができる。他の有効な染料には、例えば、ヘマトフォルフィン誘導体（HFD）から誘導され630 nmで光を吸収するフォトリチン、モノエスバチクロライン-36（NPe）、ニッポンペトロケミカル、日本）、ベンゾフォルフィン誘導体（BFD）、クワダ ロジック パンターバーBC）、エバンスブルーおよびその組合せがある。

好適には、電磁放射線源は、タンガスステン-ハロゲンランプのような高輝度の高輝度、広スペクトルの電磁放射線源および695 nm以下のすべての波長に対するカットオフフィルタで構成する。最も好適には、電磁放射線源をファイバオプティック手段によって注目部位に向けるようにする。かかる電磁放射線源の例は直流調整電源（Lambda, Inc.）により制御されるビームスプリッタを通過し且つ695 nmのロングパスフィルタを通過するファイバオプティック電磁放射線とする。

本発明装置は皮膚または注目部位のアナログビデオ信号を得る手段を含む。アナログビデオ信号を得る好適な装置は電荷結合装置（CCD）ビデオカメラであり、これによって例えば標準RS170 コンベンションを用いるフレーム当たり512水平ラインを有する30Hzの出力ビデオ信号を発生する。かかる装置の1つはCCD-72ソリッドステートカメラ（Dage-MTI Inc., ミシガン シティ インディアナ）であり、他の1つはCOHU6500（COHU、サンディエゴ、カリフォルニア）である。

注目部位は均等に照射して全ダイナミック範囲に亘り信号を良好に調整する必要がある。注目部位が不均等に照射される場合にはダイナミック範囲が制限され

ようになる。好適には、高輝度且つ拡散、即ち、均等な照射システムを用いる。注目部位全体に亘って均等な照射を得る技術は、例えばデジタル化像、制御点としての注目部位における一定な陰影グレイ像マーカー点、カメラおよび/または電磁放射線源の面の波長カットオフフィルタおよびその組合せ上の不均等照射を補償するための拡散照射像処理アルゴリズムを含む。好適には調整された電源によって電磁放射線源の変動を防止する。フートプレートシステムは注目部位と接触しこれを位置して平坦な輪郭を形成する光学ガラス（被覆）である。このフートプレートによっても組織の動きを阻止する。

アナログ信号は先ず最初（アナログ信号のレベルでデジタル化前の）検出感度を最大として信号を増幅し、全ダイナミック範囲に亘り信号を拡げ、これにより装置の感度を増大する必要がある。（交流電力ラインからのような）60Hzの雑音はアナログフィルタにより制御ボックスでフィルタ除去する。さらに、かかる調整によっても電荷蓄積装置CCDからのアナログ信号を増強し、増幅し、条件付けする。入力アナログ信号を適宜に調整する手段の1つはビデオ速度（30Hz）でこの信号をデジタル化し且つアナログに変換し直すデジタル化像として注目部位を視ることである。

検出処理中組織または患者の僅かな動きをも補償するのが重要である。患者の大きな動きはカメラを新たに方向付けして新たな平均化制御信号を得るようにする必要がある。動き補償は機械的手段または計算的手段あるいはその双方によって行うことができる。機械的手段は例えば注目部位にフートプレートを置き、この際フートプレートはフレミング装置の減感光学量ガラスを具えるおよび/または患者の骨フレームにカメラおよび電磁放射線源を固定することによって達成する。カメラおよび/または電磁放射線源を患者の骨構体に取付ける場合には任意の患者の動きは何等影響を受けない。その理由はカメラおよび照射源が注目部位に一定に向けられたままとするからである。フレームプレートの利点はこれによって動脈圧および/または呼吸により生ずる組織の動きを阻止するとともに脳脊髄液の膨らみによる変化を防止することにある。計算手段は例えば注目部位の機能制御点およびこれら制御または結合点の動きの補償を行う三角型アルゴリズム、および各点の像を平均化制御像に幾何学的に置換して動きを補償する“像ワ



ーピング”技術、および両技術の組合せを用いる。像ワーピング技術は例えばRohberg 著“デジタル像ワーピング”IEEEコンピュータ ソサイティ プレス、ロスマリトス カリフォルニア、1990に記載されている。さらに像ワーピング技術は平均化制御像に対し動きが大きすぎる際に用いられ、新たな平均化制御像をとる必要がある。制御点は内在信号解析に対し皮質表面座標置かれるように注目部位に直接置くことができる。例えば、Goshlasby (“像登録用小片状線形マッピング機能”パターン認識、第19巻、459-66頁、1986年)は制御点を用いる三角形領域に像を分割する方法を提案している。各三角形領域には個別に幾何学的変換を適用して各制御点を制御像の関連する三角形領域に空間的に置換する。

2つの像(平均化制御像および元の像)を減算前に調整する場合にはアーティファクトが発生する。その理由は差分像が動きおよび縁部情報を増幅する傾斜像と同様となるからである。像の調整は患者の動き、心拍および呼吸から生じ得るものである。1つの解決策は患者の頭のように患者に固定された剛固なアセンブリにカメラを固定して患者の位置の動きに従ってカメラの視野が動き得るようにする。他の解決策は動き検出器による実時間の動き検出および像処理板による幾何学的変換を行うことである。簡単な調整または一層複雑な(従って一層正確な)アンワーピングを人力フレーム速度および平均化の量に依存して実現し得るようになる。

人体の組織を撮像(ニューロン活動または組織を流れる染料のダイナミックな撮像)する場合、連続する像を得る間に生じ得る人体の動きを補償する必要がある。

多くの型の像に対してはxy面の並進運動によって像を変換する幾何学的補償を行うことができる。このようなアルゴリズムに対し実現可能とするために、周囲光の変化に対し(数計算術演算を好適に実現し得る)計算的に影響、メモリ影響および頑強とする必要がある。

1つの可能な方法は制御像に対する方向毎に画素の数 $n$ 乃至 $k$ だけ像を並進運動させるようにする。 $(2 \times k + 1) \times (2 \times k + 1)$ の各々に対し、像減算を行い、あるメリットを計算して制御像に対する接近性を推測し得るようになる。か

かるメリットの1例は減算像の分散である。この方法の欠点はこれが充分でないことである。その理由は $(2 \times k + 1) \times (2 \times k + 1)$ 減算像の各々に対し、512  $\times$  512 画素に亘る分散を計算する必要がある。

このアルゴリズムの有効な改善は、各領域が制御像に対し並進運動を必要とする像からの少数の画素(即ち、 $8 \times 8$ )より成る注目部位(例えば9つの注目部位)のある僅かな数を任意に選択することによって減算像の分散を推測する必要がある。また、制御像のこの関連する注目部位に対しこれら小さな注目部位を並進運動するある探索深さ(例えば10画素)を選択する。0乃至10画素に対する可能な方向の並進運動後、選択された注目部位全体に亘る分散を最小にする並進運動を選択する。注目部位のすべてが同一の大きさであるため、最小の分散を選択し得るように順序付けする必要のある分散の計算に除算は必要でない。従ってすべての計算は整数算術演算で行うことができる。注目部位が充分小さいため、データの大部分はフレームバッファおよび増大速度に対しIOを制限するホストコンピュータのRAMに記憶することができる。

他の問題は組織表面の照射を確実に均等にすることである。照射源の運動から不均等が生じ、強度分散は組織表面の3次元特性から生じる。照射源の運動は、先フィードバック機構を用いて照射源の供給電力を調整することによってアドレス指定する。これら問題の双方は像処理モジュールで補償することもある。アナログビデオ信号は信号処理手段に絶えず供給する。データを得て解析するかかる手段の1つは像解析機(例えば、シリーズ 151 像プロセッサ、イメージング テクノロジーズ、インコーポレーション、ボープルン、イリノイ)である。像解析機はアナログデジタルインターフェースでアナログビデオ信号を受けてデジタル化し、且つ1秒のはば1/30のフレーム速度(例えば30Hzまたは“ビデオ速度”)でかかる機能を遂行する。信号の処理には、まず最初、画素に割当てられた注目部位の部分から反射されない光子の数(即ち、電磁放射線の量)に依存する(2進系の)値を割当てた一連の画素、即ち、小さな正方形にデジタル化する。例えば、現在のテクノロジーCCDから標準512  $\times$  512 像において、像当たり262,144 個の画素が存在する。8ビットシステムでは、各画素は8ビットで表わされる。このCCDは冷却して熱雑音を減少させることができる。

体の入力として用いて再び他の像と組合せるようになる。

かかる像を減算する前に、デジタル化像で患者の動きを補償するのが重要である。これがため、像に幾何学的変換を施してこれら像を減算前に幾何学的に置換する。

本説明装置は実時間モデュラープロセッサまたは高速CPUチップを像プロセッサに加えることによって差分フレームを形成する処理速度を増強することができる。例えば1つの実時間モデュラープロセッサを150 RTMP-150 リアルタイムモデュラープロセッサ(イメージング テクノロジー、Woburn, マサチューセッツ)とする。

さらに処理手段は差分像のヒストグラム伸張(例えば、ヒストグラム/ フィーチャ イクストラクタ HP-151-1-Vモジュール、イメージング テクノロジー、Woburn, マサチューセッツ)を行って各差分像をそのダイナミック範囲に亘って増強する。線形ヒストグラム伸張は例えばグリーンによる“デジタル像処理: システムアプローチ”ファン ノストラッド ラインフォード、ニューヨーク、1983年に記載されている。ヒストグラム伸張によって最も明るい画素、即ち、差分像の最高値を有する画素を割当てるとともにこれに最大値を割当てる。最小の画素値には最小値を割当てその間の全ての他の値には(線形ヒストグラム伸張に対し)最大値および最小値間の直線的な値(およびlog ヒストグラム伸張に対し対数値等)を割当てる。これにより差分像によって絶対変位に対し供給される全ダイナミック範囲を完全に用い得るようになる。

像処理システムによって得られる、または、開発下のハードウェアの多様体を用いることができる。例えば、テキサス インストラメント マルチメディア ビデオ プロセッサ(MVP)が動きビデオ用途に対して開発されている。MVPによって内部アーキテクチャを高度に平行とし、オンチップメモリを大きくし、CPU内でCPUメモリおよびI/O装置間の通信の帯域幅を極めて広くし、実時間ビデオ圧縮標準および実時間像処理、処理並びに可視化の要求を支持するために必要な毎秒20億以上のRISC型演算特性をし得るようになる。例えば、ハードウェアはVMEバスへのインターフェースを有するプリント回路板モジュールを有することができる。単一シャーシによって全部のモジュールを収容し、手

好適には、信号処理手段は、白黒像で表わされるグレイ符号化画素値を各グレイ符号化値の強度に基づくカラー符号化値に変換する値で初期化されたプログラマブルックアップテーブル(例えば、CM150-LUT16、イメージング テクノロジーズ、ボープルン、マイアミ)を含む。これによって像伸張により像増強を行う。像伸張は、デジタル像フレームの各画素を扱うために用いられる最高および最低の画素強度値を伸張すべき像フレームの領域全体に亘って決めるようにする。選択された領域を値の大きな範囲に亘って伸張することにより例えば雑音による比較的高いスプリアス値を容易に識別し、且つ除去することができる。受信した各像を、例えば画素の512  $\times$  512 アレイとして表わされるデータ素子のフレームとしてフレームバッファ、好適にはCPUの文脈内に記憶する。各画素は256 グレイレベルの1つに相当する8ビット値を有する。

さらに処理手段はA/Dインターフェースから受けたデジタル化像データのフレームを記憶するフレーム記憶領域を有する複数のフレームバッファを有する。フレーム記憶領域は少なくとも1メガバイトの記憶スペースおよび好適には少なくとも8メガバイトの記憶スペースを有する。追加の16ビットフレーム記憶領域は、8ビット以上で表わされる画素強度を有する処理された像フレームを記憶するアキュムレータとするのが好適である。フレームバッファは一時的な高速メモリとする。処理手段は少なくとも3つのフレームバッファを含む。そのうちの1つのバッファは平均化制御像を記憶し、他のバッファは次の像を記憶し、3番目のバッファは平均化制御像および次の像間の差分像を記憶する。

さらに処理手段は1つ以上のフレームバッファに位置するデータから算術演算(加算、減算等)機能および論理(AND、OR等)機能を示する算術論理演算ユニット(ALU)(例えば、ALU-150 パイプラインプロセッサ)を含む。ALUは高速プロセッサとする。ALUによって実時間で像平均化を行う。例えば、新たに到着するデジタル化ALUに直接送るとともに双方の像をALUに通過させて加算することによりフレームバッファに位置する平均化制御像に対する加算または減算を行う。最後の像を加算した後、この16ビットの結果を再びALUに通ってALUによりこの結果を定数(即ち、像の経数)で除算する。ALUからの出力はフレームバッファに記憶してさらに処理を施すか、またはそれ自

術室内または手術室間で容易に搬送し得るとともに表示モニタおよび周辺入出力装置を有するラックに設け得るようにする。実時間システムは例えば取得、(アクリジョン)、像処理、周辺制御およびホストコンピュータに対する4つのボードを具える。処理能力を低減する最小の構成は取得ボードおよびホストコンピュータボードのみを具えることである。取得ボードは到来ビデオフレームの実時間平均化を行い、且つ最大速度のバスで平均化フレームを送出することである。VMEバスが好適な理由はそのピーク帯域幅(最も速い修正に対して80Mバイト/秒以上、VME64)が高く、且つ多数の存在するVME種と相適性がよいからである。取得ボードは可変走査インターフェースを経て多くの種々の型のカメラを支える必要がある。ドータボードによって多くの種々の型のカメラのインターフェースの必要性を支援することができ、且つ可変走査信号を取得マザーボードに供給することができる。好適には、ユニットはRS-170Aビデオ信号へのインターフェースを行うドータボードを具え、カメラの広い基盤を支持し得るようにする。高い空間/コントラスト解像度および/または良好な信号対雑音比を有する低速走査カメラのような他の型のカメラを用い、これを本発明装置に組込むことができるとともに改修したドータボードにかように改修したカメラを組込むこともできる。

ホストコンピュータはVMEインターフェースを有する単一ボード型コンピュータを具える。好適には、このホストコンピュータはバス帯域幅の考慮に依存するVME64インターフェースまたは標準(IEEE 1014-1987) VMEインターフェースを具える。ホストコンピュータボードの例は例えばフォーエスSPARC/CPU-2 EおよびIIP9000モデル7471を含む。ユーザのインターフェースは例えばユニックス/X-Windows環境とすることができる。像処理ボードは例えばテキサスインスツルメンツMVPおよび他のチップに基づき、実時間像平均化、登録、および手術中見え得るようにするために高品質の差分像を発生させるために必要な他の処理を実行し得るようにする。このボードも120×120 RGB表示装置を駆動してハイライト腫瘍組織に対する疑似カラーマッピングを有する一連の差分像を示す。好適にはホストコンピュータに第2モニタを用いてスクリーンリアルタイム全体を増大し且つユーザのインターフェースを円滑にし得るよう

にする。処理ボード(完全にプログラマブルである)によってVME64マスタインターフェースを支持して他のボードと相俟ってデータトランザクションを制御することができる。最後に、周辺制御ボードによって電気的なインターフェースを設けてホストコンピュータから機械的なインターフェースを制御することができる。かかる機械的なインターフェースは例えば染料注入用のコンピュータ制御モータ駆動シュリンジおよびカメラ制御ボックスを具える。

差分像は好適にはさらに処理して像を円滑にするとともに高周波雑音を除去する。例えば、低域通過空間フィルタは高い空間周波数および/または低い空間周波数を阻止してダイナミック範囲の両端で高周波雑音を除去し得るようになる。これにより円滑に処理された差分像(デジタルフォーマットで)を提供することができる。デジタル処理された差分像はカラーのスペクトルをグレイの異なる陰影に割当てることによりカラー符号化することができる。次いでこの像を(AD1ボードにより)アナログ像に再び変換し戻して、平均化制御像および次の像間の差を実時間で可視化する。さらに処理された差分像はアナログ像全体に亘り重畳して注目部位のビデオ表示時に領域の染料が迅速に取込まれる際に、または内在信号が正の方向に増大する特定の組織箇所を表示し得るようになる。同様に、神経活動が減少すると組織の電磁放射線吸収量が減少する(即ち、組織が一層明るくなり、内在信号が負となる)。例えば、像Aを次の平均化像とするとともに像Bを平均化制御像とする。通常は、像Aの画素が像Bの画素から減算するとともに負の値を発生し、この値を零として処理する。従って差分像によって禁止領域を考慮することはできない。しかし、本発明によれば、負および正の内在信号を確認する方法を提供し、この方法によれば、(a)像B(平均化制御像)から像A(次の平均化像)を減算して第1の差分像を形成し、これにより全ての負の画素値を零とし、(b)像Aから像Bを減算して第2の差分像を形成し、これにより全ての負の画素値を零とし、且つ第1および第2の画素値を加算して「和の差分像」を形成する。和の差分像は増大する活動(即ち、黄、オレンジ、赤のような暖色系のカラーで符号化されたカラー)の領域を示し、減少する活動(即ち、緑、青、パープルのような寒色系のカラーで符号化されたカラー)の領域または禁止領域を有する。或は又、第2の差分像に第1の差分像を重ねることがで

きる。何れの方法によっても増大したニューロン活動おれんじ減少した活動の像を提供することができる。

好適には、処理手段はデジタル像データを記憶する光学ディスク、デジタルおよび/またはアナログビデオ像のハードコピーを提供するプリンタ、および装置の(アナログ信号に変換された)差分フレーム出力を連続的にモニターするようにしたモニタとを更に具える。この差分フレーム出力は実時間アナログビデオ像上に重畳して冷凍時にカラー符号化差分フレームで置き換えられた注目部位(例えば皮膚表面または推定された腫瘍箇所)のビデオ像を形成し、迅速な染料取込み部位が発生し、且つある刺激またはパラダイムに応じて内在信号が存在することを示すことができる。

外科処置中、患者が動く場合がしばしばある。麻酔処置された患者の場合には、動きはしばしば呼吸および血流に依存する。覚醒した患者の場合には追加の動きが生ずる。この動きはデジタル化像で補償されるため、これら像は減算前に幾何学的に置換することができる。この幾何学的値はデジタル化像に幾何学的変換を施すことによって達成される。幾何学的変換を実時間で実行し得る像-処理ハードウェアの一部はGP-150幾何学的処理ボード(Informatique et Technique Avancées, Issy-les-Moulineaux, France)である。このGP-150幾何学的処理ボードはテキストハードウェアと両立し、且つ実時間回転、並進、ズーム、および512×512×8ビット像での双一次補間による2次歪み補正を遂行する。像処理方法

充実性腫瘍を画像する方法は注目部位の推定腫瘍箇所を循環する血管(例えば動脈または静脈)にポラス注入により染料を周期的に導入することを含む。好適には、染料は比較的短い半減期(例えば5分以下)を有し、且つ迅速にクリアされて迅速に導入を可能とする。本発明装置のビデオCCDは推定された充実性腫瘍箇所(注入部位)上に集束され、且つ染料により吸収される波長を含む高強度の電磁放射線によって上記腫瘍箇所を照射する。染料の導入直前に第1の平均化像を取出し、デジタル化し、フレームバッファに記憶する。染料は迅速に注入されて直ちにポラスとなる。次の像フレームを取出して記憶し、算術的に比較して本発明処理手段を用いる差分像(例えば1秒当たり1つまたは2つ)を形

成する。染料の初期可視化はまず最初腫瘍組織の差分像に現われる。その理由は染料が一層迅速に腫瘍組織ないを循環するからである。充実性腫瘍の組織は充実性腫瘍マスを概略する陰影付きのラインとして差分フレームに現われる第1像となる。この差分フレームを冷凍して記憶し、外科医が腫瘍像を観察して手術中に実時間で腫瘍箇所を確認し得るようになる。さらに、染料は正常な組織に比べて腫瘍組織で長期間に亘り残存する。これがため、正常な組織および腫瘍組織の双方において注入部位を通過する染料が一般に現われた後腫瘍組織の染料クリアランスが遅延し、これにより腫瘍組織に存在し、正常な組織に存在しない染料によって腫瘍存在を可視化する他の機会を得ることができる。一層侵略的な悪性の腫瘍では、腫瘍の等級が高くなればなるほど染料が腫瘍組織の一層長く残存するようになる。等級が低く一層良性的な腫瘍に対しては、染料は腫瘍組織に45秒乃至2分間残存するが、一層悪性の腫瘍では染料は10分間も残存するようになる。

本発明方法はMRI(磁気共鳴画像)のような腫瘍第1画像技術を確立するのに極めて好適である。その理由は光学的画像によって現在のMRI技術(MRIは手術中の技術ではない)で識別し得なかった等級の低い腫瘍を識別し得るとともに更新した像を染料の再導入による外科的処置中連続して用いることができるからである。この染料は抽出が開始されて残存腫瘍組織に対し抽出部位を視る外科的処置中複数回導入することができる。CNS腫瘍に対してはMRI技術によってかかる腫瘍を画像し得る血液脳関門を安協した進行期の腫瘍に必要である。コントラストによる本発明光学的画像方法は血液脳関門とまだ安協しない低い等級の腫瘍をも画像することができる。これがため、この光学的画像はMRIよりも一層高度のよい技術であり、手術中の使用し得、且つ腫瘍を等級化する好適な手段を提供することができる。

染料は生体内導入に対し安全であり且つ静脈内導入または動脈内動脈内に短い半減期を有する電磁放射線吸収染料とする。かかる染料の1例には、インドシアニンググリーン、ファトフリン®、NPe、BPD、エバンスブルーおよびその組合せがある。さらに、充実性腫瘍の外科的抽出中、染料は注入部位から迅速にクリアされるのが重要である。所縁にして、染料導入を繰返して抽出中残存腫瘍組織を決めるようにするのが重要である。

画像観測中患者、特に寛解患者の動きを考慮して、平均化像フレームを連続的に更新するのが望ましい。これがため、残留染料の漏洩、患者の動きまたは外科的地盤による組織の動きを考慮する。

例えば、腫瘍組織を可視化する本発明方法は、前頭葉の脳神経腫瘍モデルを用いて本発明方法の可能性をテストし、腫瘍組織から正常なまたは水溶性の脳を識別するとともに全ての可視腫瘍抽出異常な腫瘍から正常な腫瘍を本発明方法により分離するかどうかを決めるようにする。脳の血管を流る染料の濃度のダイナミックな性質によって正常な脳および腫瘍組織の識別を行う。さらに、 $20 \mu\text{m}^2$  /画素以下の光学像の空間解像度のため、残留腫瘍の小さな領域をも識別することができ。さらに、腫瘍組織を無損傷顕微鏡を経て確認し得るため、外科的手術前に腫瘍像を行う方法および装置を提供することができる。理論に縛られることなく、正常な脳組織周囲および腫瘍組織を流る染料濃度のダイナミックな差を次に示す4つの理由の任意の1つまたはその組合せに対し考慮する必要がある。

- (1) 機能不全腫瘍毛細血管を流る染料の大きな漏出、
- (2) 腫瘍組織による染料の著しく迅速な取込み、
- (3) 腫瘍組織を流る緩慢な循環回数、
- (4) 腫瘍組織による染料の好適な取込み。

脳の神経組織モデルを検査し、微小血管系を正常な皮質と比較する。腫瘍組織の血流は正常な組織のものよりも一層緩やかであり、且つ一層変化し得る。腫瘍と正常な脳との相違は腫瘍の位置、浸透度、壊死に寄与する。脳の脳に移植されたC6大神経腫瘍細胞の培養球界を用いる他の研究では、血流は正常な脳の脳よりも生育腫瘍で一層緩やかとなる。微小血管の容積率は腫瘍と正常な脳との間で等価となる。しかし、腫瘍のほぼ50%のものが活性的に灌流するため、腫瘍の灌流した微小血管の表面積は正常な脳のもの1/2であった。これらの変化は腫瘍に比較して正常な脳により一層迅速にクリアされるようになる。

腫瘍毛細血管の透過率は正常な脳のものよりも著しく高い。これら毛細血管の機能不全によって大きな粒子の浸透を生じ、その結果水腫が生じ、且つ腫瘍の微小血管を囲む割込み圧が増大するようになる。腫瘍の微小血管は正常な脳動脈の

平滑筋を含まないため、これらも圧力傾度の局所制御を有さなくなる。これによっても腫瘍組織に血流停止を生じるようになる。染料濃度の総合効果によって正常な脳のものよりも走行時間が長く且つ腫瘍組織からの大きな光学信号の持続時間が増大して長くなる。かかる理由によって染料濃度中にみられた腫瘍および正常な脳からの光学信号のダイナミックな変化を支持するようになる。この場合腫瘍組織にほぼ等価な取込みおよび充分に緩やかな走行時間が生じ、従って光学信号に長い増加が生じる。また、腫瘍を囲む組織は機能不全の毛細血管なく割込み圧の増加が期待され、且つ腫瘍組織が光学変化の中間期間を有すると云う事実に従って他の微小血管系が変化するようになる。

正常な脳からの染料の一層迅速なクリアランス機構が発生するかどうか、または染料が腫瘍細胞によって好適に隔離されるかどうかは明らかではない。後者の場合にはヘマトポルフィリンが腫瘍細胞内に好適に取込まれるようになるとともにかかる細胞にファトダイナミック法を用いる可能性を考慮する。染料が脈管内に完全に残留する場合には正常な細胞および腫瘍細胞間に染料の極めて不均一な分布が期待されるようになる。しかし、一層大きなバイル微小血管間の領域からとられた中間像からはその反対のことが観察された。

さらに、本発明によれば既述した人かん活動の領域のような皮質機能領域および機能不全領域を撮像する方法を提供する。この方法によれば特定の皮質機能不全をマッピングし、またはてんかん患者のてんかん活動の位置である機能亢進領域を確認する感知信号を導入する。皮質のてんかん発作領域は自然に一層活動的なものとして可視化され且つ皮質活動の内在信号をマッピングする方法を用いる本発明方法によって撮像することができ。

内在信号を可視化する方法には特定のパラダイムによって皮質組織を刺激することが含まれる。種々のパラダイムは例えば物体の輪を患者にみせ、且つ物体の名称を患者に尋ねてニューラル活動を誘発し、これにより関連する内在信号を形成する。

本発明方法および装置の他の特徴は抹消神経の損傷およびスカーリングを撮像し得ることである。中枢神経系および抹消神経系(PNS)の神経は損傷後に再生する可能性によって特徴づけられている。損傷した抹消または感覚神経を修復

する手術中内在信号のブロックの領域を撮像することによって神経損傷領域を撮像することができる。例えばこの神経は注目部位に露出される。神経は損傷箇所の上流を刺激する。活動的な神経経路は活性化後の処理された差分フレームの内在信号によって撮像する。神経損傷またはブロックの箇所は損傷箇所の内在信号に対する急激な増部または下降によって明らかである。所望にして外科医は神経損傷が存在する箇所の情報を実時間で詳しく得ることができ、可能であれば損傷を修復することができる。

さらに、神経組織を囲むかまたは隣接して位置する腫瘍組織を除去する必要がある場合には、本発明装置および内在信号を撮像する可能性を用いることができる。例えば、聴神経腫瘍と称される腫瘍は通常内耳(聴覚)神経を囲んで位置している。内耳神経(脳神経)を損傷することなく、且つ耳を機能にすることを可能にするか、または顔を動かす筋内を刺激する顔面神経を損傷することなく腫瘍組織を除去するのは困難な処置である場合が多い。本発明方法によって染料を用いる神経組織の周囲から腫瘍組織を識別する可能性を提供する。さらに、本発明方法によれば、内耳神経用の音声パラダイムにより神経を連続的にまたは周期的に刺激するか、または顔面筋から顔面神経を運動させ、且つ神経活動に関連する内在信号を検出することによって内耳神経または顔面神経の正確な位置を示す情報を外科医に連続的に示すことができる。従って、神経組織の最も近くに腫瘍組織が存在する場合には染料により腫瘍組織を位置決めするとともに同一の撮像装置を用いる内在信号を検出することによって神経組織を位置決めすることができる。

撮像方法によって注目部位の裏面の情報を得るとともに組織の深いレベル層において注目部位をターゲットすることができる。像(平均化制御像および次の平均化像)を形成するために用いる電磁放射線の長い波長を用いて組織の深い層に存在する注目部位をプロブする。さらに、 $500 \text{ nm}$ で見られる像および $700 \text{ nm}$ で見られる像間に差分像が得られる場合にはこの差分像は組織の光学のスライスを示す。さらに、カットオフフィルタを用いる代わりに、染料の導入を電磁放射線の組織フィルタとして作動させて注目部位にフィルタを設ける。この場合には、長期間に亘り腫瘍または正常な組織に残留する染料を用いる必要がある。

さらに本発明方法によれば、腫瘍組織から得た像または内在信号差分像の感度

およびコントラストを増強するに当たり、(a)少なくとも電磁放射線の第1波長および第2波長を含む放射線の複数の波長により注目部位を照射し、(b)電磁放射線の第1波長から得た第1フレーム列および電磁放射線の第2波長から得た第2フレーム列等を含む電磁放射線の各波長に相当するフレーム列を得、(c)第1フレーム列、第2フレーム列等を処理して第1平均化制御像、第2平均化制御像等を形成し、(d)内在信号を刺激するかまたは腫瘍組織像に対する染料を導入し、(e)電磁放射線の第1波長を用いる第1列の次のフレーム、電磁放射線の第2波長を用いる第2列の次のフレーム、等を得るとともに第1、第2等の次のフレーム列を処理して第1、第2等の次の平均化像をそれぞれ形成し、(f)第1の次の平均化像、第2の次の平均化像、等から第1の平均化制御像、第2の平均化制御像、等をそれぞれ減算して第1の差分像、第2の差分像、等をそれぞれ形成し、(g)第2の差分像に対する第1の差分像の比をとることにより増強された差分像を得るようにする。この方法は例えば電磁放射線の2つの単一波長によるか、または電磁放射線の広い多波長波長および複数の低パスフィルタを用いることによって達成することができる。好適には、注目部位を照射する単色電磁放射線をレーザ源とする。

内在信号および腫瘍組織を撮像する本発明装置および方法は外科地盤設定の外で用いることができる。特に、無損傷皮膚および骨を流る腫瘍撮像を行うことができる。被検体のある領域では、長い波長の可視光および近赤外線電磁放射線を、乳房組織のようなかかる腫瘍組織に容易に透過させることができる。染料を注入すると、腫瘍組織のような影響血管部位を確認することができる。

本発明方法の他の例では、抗体のようなターゲット分子に共役の電磁放射線吸収、即ち、蛍光染料、または特に腫瘍細胞の抗原表面マーカーに特定のモノクローナル抗体またはそのフラグメントを用いるようにする。蛍光染料の励起波長(放出波長ではない)を含む電磁放射線によって注目部位を照射する。この照射は電磁放射線層上にカットオフフィルタを用いることによって行う。好適にはCCDカメラを増強装置またはマイクロチャンネルプレート(例えば、KS-1381ビデオスコープインターナショナル、ワシントン、DC)に結合してシステムの感度を数オーダー増大し、且つこれに加えた蛍光染料を有する細胞を可視化する。タ

ーゲット分子と共役となり得る蛍光染料の例は例えばモレキュラー ブローブ ユーゲン ORから販売されているカスケードブルー、テキサスレッドおよびルシフェイエローCHである。

本発明装置はさらに他の用途に適用することができる。例えば装置を皮膚（例えば、図1および2参照）の電気的刺激に用いる電極の校正に使用することができる。健康患者の皮膚の機能的体制をマップするために外科医が現在使用している技術は皮膚の表面に（刺激電極を経て）電流を直接供給することである。外科医はてんかん発作をトリガすることなく、または組織に損傷を生ぜしめることなくできるだけ最大強度の刺激電流を供給するようにする。刺激電極を校正する方法としては、外科医は、可変強度の電流を患者の皮膚に供給するとともに患者の脳の表面に直接設置された記録電極の出力を観察しながら電気的活動をモニターする。外科医は刺激電極により数秒間電流を供給するとともに刺激停止後のある期間に亘り持続し得る刺激後のてんかん活動に対し記録電極からの出力をチェックする。本発明装置によれば、電極刺激電流により皮膚が受ける空間程度および刺激電流停止後持続する刺激で誘発された活動の時間コース（所望に応じ）をモニターする正確な手段を設ける。この方法では、刺激後の制御を得、次いで刺激中または後に次の像を得る。像はここで説明したように処理して休息活動が供給された刺激電流により影響を受ける皮膚のこれらの部位の高解像度空間マップを提供する。また、本発明装置は外科医が電極に対する適宜の刺激電流を選択するために用い得る刺激およびてんかん活動の空間的程度および時間コースのマップを提供する。

さらに、血管の血流のダイナミック変化および内在光学変化を用いる皮膚活動を即時空間マッピングする本発明装置を使用することができる。（例えば、図1および図2参照）。理論によって規制されることなく、大きな血管の領域内の内在光学変化は、これら血管内の血流速の変化割合に依存する。本発明によれば個別の血管内の血流速の変化をモニターする方法を提供する。

また、本発明は神経外科処置中麻酔をかけられた患者の皮膚の機能的体制をマップする方法を実施する装置を使用することもできる（例えば、図5参照）。この方法によれば、求心性知覚入力を経理するに特定の皮膚領域を活性化させる求心性

知覚刺激を行うとともに本発明方法および装置で観測された誘発内信号を求心性知覚刺激に含まれる皮膚の領域を光学的にマップする。

例えば、腫瘍の外科的摘出中、外科医は皮膚のどの部位が麻酔された患者の脚部からの知覚入力の範囲に含まれるかを知る必要がある。従って外科医は麻酔刺激のような求心性知覚入力を脚部に供給して情報の伝達を脚部の知覚処理に含まれる皮膚の該当部分に生ぜしめるようにする。この知覚刺激は本発明方法および装置を用いてマップし得る皮膚の適宜の領域を活性化させる。求心性知覚入力の他の例によれば、聴中枢を活性化するために音響的刺激を行うとともに聴中枢をマップするために視覚刺激を行い、しかも両者を動かすようにする。この方法は麻酔された患者のある機能部位をマッピングするのに有利である。

さらに、腫瘍縁部からの試験切除を行う際に手術中の外科医の手助けとなる方法を実施する本発明装置を使用することもできる（例えば、図12参照）。腫瘍の外科的摘出後、外科医は腫瘍摘出縁部のどの部位が腫瘍組織の残遺物を含むかを識別し得るようになる。これが重要となる理由は、多くの腫瘍の型において、手術後の照射および化学療法の有効性を腫瘍組織残存量に対して相関すると考えられるからである。腫瘍のこれらの残遺物を確認する現在の技術では、外科医は僅かな量の組織を任意のサンプリングで取出して顕微鏡への検査用としてこれをサンプルを送るようになる。このサンプリングおよび検査は外科手術中に行う必要がある。その理由は外科医はこの情報に基づいてどの組織をさらに摘出する必要があるかを決定する必要があるからである。この技術によれば、外科手術に必要な時間が増大して費用が高まり、且つ患者への危険が増大する等のいくつかの欠点があり、しかも、試験切除を決める任意のサンプリング法はサンプリング誤りを受けがたいものとなる。本発明によれば、腫瘍縁部の内の残留腫瘍組織の箇所を迅速に決める方法を提供する。これは、組織のどの部位を試験切除の目的でサンプリングするか、およびどの部位を腫瘍組織が含まれるものとして直ちに摘出する必要があるかに関する外科的決定の手助けとなる。

#### 例 1

この例は皮膚の直接の電気的刺激による該領域の光学変化を示す。皮膚表面の電気的な記録（表面 EEG、ECOG）は光学変化と相関する。図1および2は

皮膚の直接の電気的刺激中およびてんかん発作活動中、人の皮膚の内在光学性質のダイナミック変化を示す。図A、B、C、およびDは本発明装置を使用して寛限または麻酔神経外科処置中人の皮膚の内在光学変化の高空間解像度を有するダイナミック情報を提供する代表的な光学撮像法を示す。図1において、内在信号変化は刺激電極「校正」中、健康患者の皮膚に誘発する。4つの刺激試行は皮膚表面に逐次供給し、各刺激によっててんかん発作を誘発する。刺激試行は次のものから成る。（1）ある期間に亘り記録電極の出力を観察することにより休息皮膚活動度をモニターし、（2）電流を刺激電極を経て数秒間に亘り皮膚表面に供給し、（3）刺激停止後ある期間に亘り記録電極の出力をモニターする。

一連の像（各像は30Hzで得られた128 フレームの平均値より成る）は4つの刺激試行の各々中に得る。最初の3つの刺激試行に対しては5mAの電流を用い、4番目の刺激試行に対しては8mAの電流を用いる。一連の3-6個より成る平均化制御像を得た後、放電活動後にてんかんが誘発されるまで（表面電極によって記録される）、バイポーラ皮膚刺激電流（6mAまたは8mA）を供給する。像は4つの刺激試行の各々中連続的に得られた。

各画像に対する光の吸収変化度を4つの刺激試行中に得られた各像に対し計算する。（図1Aにマークした4つの正方形領域によって示される）4つの部位に亘る平均変化度をこれら4つの空間的部位に発生するダイナミック変化の比較および解析のために、図1B、1Cおよび1Dにグラフィックにプロットして示す。

図1Aは1つの記録電極（r）と、2つの刺激電極（s）と、これら領域全体に亘る吸収の平均変化度が決まる4つの箇所（4角枠で囲んだ領域1、2、3および4）とを有する顔面運動皮膚の直向の人の皮膚を示す。皮膚は電磁放射線＜690nmで照射した。スケールバーは1cmである。

図1Bは図1Aに示す4角枠1および3の空間領域における電磁放射線吸収の変化度（毎秒）をプロットして示す。両領域に対し、ピーク変化は最大量の刺激電流が誘発された4つの刺激試行（8mA）中最も長いてんかん発作後の活動である。4角枠3内の変化度は4角枠1内の変化度よりも大きく且つ一過長かった。4角枠3はてんかん発作領域（患者のてんかんに対し応答可能な組織の活動可能な領域）上に位置していた。

図1Cは図1Aに示す4角枠1および4の空間領域における電磁放射線吸収の変化度（毎秒）をプロットして示す。4角枠1は2つの刺激電極間の皮膚組織の領域上に位置し、4角枠4は血管上に位置する。4角枠4内の変化度は4角枠1よりも充分大きく、その反対方向にある。また、これらの変化度は刺激電流およびてんかん発作後の活動の大きさによって等級化される。4角枠4内の変化度は血管内の血流速度の変化に著しく依存するため、このプロットは本発明が皮膚活動および血流を同時にモニターし得ることを示す。

図1Dは図1Aに示す4角枠1および2の空間領域における電磁放射線吸収の変化度（毎秒）をプロットして示す。これら2つの領域が互いに近接しているにもかかわらず、これらの光学的变化は6mAの電流を用いる最初の3つの刺激試行中反対方向にある。4角枠2の領域内の血に向かう変化は本発明を用いて皮膚活動および筋収縮の禁止をモニターすることができることを示す。

本例で記載された全ての画像処理および患者の承認フォームはユニバーシティ オブ ワシントン ヒューマン サブジェクト REVIEW コミッティによって可決され、且つ承認された。全ての患者は外科手術および腫瘍の両方に対するインフォームド コンセント ステートメントを署名した。皮膚は直流通電源（Lambda, Inc.）により制御され且つ695nmロングパスフィルタを通過したビームスプリッタを通過するファイバーオプティック電磁放射線によって均等に照射した。像は特別に修正されたシネマダブタにより手術用顕微鏡に固着されたCCDカメラ（COHU65000）により得た。皮膚はガラスフロントプレートによって安定化した。像は30Hzで得て、8ビット（Imaging Technology Inc. Series 151 system, Woburn MAを用いる512×480画素）でデジタル化した。幾何学的変換を像に適用して患者の動きの少量を補償する（Wohlberg, "デジタル像ワーピング" I.E.E.E. Computer Society, Los Alamitos, CA, 1988）。制御像による次の除算により制御状態中に得た像から刺激状態中（皮膚表面刺激、舌の運動またはネーミング中）に得た像を減算することにより差分マップを得た。生のデータ（即ち、デジタル化しない）は特定の領域（平均寸法の4角枠は30×30画素または150-250μm<sup>2</sup>）の平均光学変化を決めるために用いた。疑似カラー像に対しては、線形ロウパスフィルタによって高周波雑音を除去する

とともに線形ヒストグラム変換を適用した。雑音は逐次得られた制動像の変動の標準偏差として規定し0.003-0.009とした。

刺激電極（図1Aの箇所#1）および近くの記録電極（#3）間の光学変化は各でんかん発作の強度および持続時間に対する等級化応答を示した（図1D）。でんかん活動の空間程度は刺激前に得られたベースライン像と刺激直後に得られた像とを比較することにより示した。光学変化の強度および広がり刺激#4（でんかん発作後最長）後よりも次の刺激#2（でんかん発作後最短）が最も少なかった。光学変化はベースライン以下である場合には表面EEG記録はでんかん発作活動（n=3患者）を確認しなかった。図2A1の箇所#3では刺激後の光学変化はベースライン以下（図2A3のブラック領域）であった。しかし、第4の刺激箇所#3の部位内に広がったでんかん発作活動および光学信号は後までベースライン以下とならなかった（図1Bの箇所#3）。この良の光学信号は禁止された神経母集団（でんかん禁止領域）を激し、減少した酸素放出または血流が活動化された領域に分泌されたことを示す。

図3は活性領域およびでんかん発作時点を識別する光学信号の一遍のダイナミック変化を示す。図3には前の2つの図に示される刺激試行2からの8つの差分像度を示す。各像は2秒間隔で得られる。最大の光学変化の領域は、像3、4および5の中心において、最大の皮質活動の領域を示す。この領域がでんかん領域である。光学変化の大きさは図2にグレイスケールバーで示す。各像はほぼ4cm×4cmの皮質の領域を示す。

図4は人の皮質における刺激誘発光学変化のダイナミック変化の高時間シーケンスを示す。図4のパネル1〜8は各々が8フレーム（＜1/4秒/像）の平均値である8つの連続する差分像度を示す。各像はほぼ4cm×4cmの皮質の部位にマップする。

図6において、皮質表面の刺激マッピングは局所麻酔状態の覚醒患者に施して知覚/運動皮質およびBroca's部位を確認した。3つの「舌ウィグリング」試行中は平均化（32フレーム、1秒）され、2秒毎に記録する。舌運動試行は、休息中に5〜6個の像を得、次いで40秒中に患者が舌を上唇に動かすことを要求する像を得、その後回復期中像を連続的に得ることにある。次いで同一の患者は

「言語ネーミング」試行を行うことを要求した。言語ネーミング試行は、休息中に5〜8個の像（制動像-患者が一連のブランクスライドを黙って見る）を得、次いで患者が（Broca's部位で大きな応答を誘発するように選択された2秒毎にスライドプロジェクタに存在する一連の物体をネーミングする）ネーミングパラダイムで試行した時間間期中像を得、患者がネーミングタスクをやめるとき（沈黙を守りながらブランクスライドを見る）に次回回復期間中一連の像を得ることにある。像A1およびB1は人の皮質の領域のグレイスケール像であり、左側は前部、右側は後部、上側は頂部、下側は底部外側溝である。像A1、B1、A2およびB2の2つの屈印はこれら像間の基準点である。像A1およびB1の下側右側のスケールバーは1cmとする。像A1において、番号を付した4角枠は電気刺激電極による皮質刺激によって口蓋運動（1）、舌運動（2）、音声停止-Broca's領域（3、4）および無応答（11,12,17,5-前運動）を誘発する箇所を示す。像A2は1つの舌運動試行の休息中の皮質の百分率刺激制動像である。像A2の右側のグレイスケールバーは像A2、A3、B2およびB3に関連するカラーコードの相対的な大きさを示す。像A3は1つの舌運動試行中に発生するピーク光学変化の差分マップ度である。皮質刺激により舌および口蓋感覚領域として識別された領域は大きな正の変化を示す。周囲領域においてベースライン雑音を抑制することは1つの舌運動試行中言語-運動領域が良に向かう光学信号を示すことを要する。像B2は1つの言語ネーミング試行中の皮質の百分率刺激制動像である。像B3は言語ネーミングタスク中の皮質のピーク光学変化の差分像度である。大きな正に向かう信号はBroca's領域に存在する。良に向かう信号は舌および口蓋感覚領域に存在する。

図7は舌および口蓋感覚領域およびBroca's領域で誘発された人の皮質のダイナミック光学的変化の時間コースおよび大きさをプロットして示す。この図7には、3つの舌運動試行の各々および1つの言語ネーミング試行中図6に示す4角枠で囲まれた領域、即ち、像A1およびB1ないの組織の光吸収の変化度をプロットして示す。図7Aは3つの舌運動試行中図6で示される4角枠1、2、3および4内で空間的に平均化された像A1をプロットして示す。図7Bは4角枠1〜7および17内で空間的に平均化された言語ネーミング試行の1つを示す。これ

らの結果は指の運動中知覚皮質にいい電気電位が存在することを報告したリー等によりレポートされたデータと一致する（Ann.Neurol）。舌の運動中知覚皮質の光学変化の大きさ（10〜30%）は運動タスク中脳血流が10〜30%増大する知覚/運動皮質の研究と一致する（Colebatch et al., J.Neurophysiol. 65:1392, 1991）。さらに、視覚刺激中人皮質の血容量変化のMRIを使用することにより脳血容量が30%まで増大するようになる（Delliveau et al., Science 254:716, 1991）。

光学像はこの同一の皮質領域から得た（即ち、注目領域）が、患者はブランクスライドを見るとともにスライド上の物体のネーミングは2秒ごとに行った。ネーミング中に得た差分度マップは前運動領域の活動度を示す。音声停止および口蓋運動の箇所は表面刺激で確認され且つ反対方向に向かう光学信号で表わす。活動部位は音声を生じない舌運動によって誘発された部位とは相違すること明らかである。ネーミング中の前運動皮質活動の光学像はPET-CTスキャン地理研究において確認された皮質部位と活動の箇所にある（Peterson et al., Nature 331:585, 1991 およびFrith et al., J.Neurophysiol. 29:1137, 1991）。光学変化はBroca's部位として因習的に規定された皮質部位で最大となり、電気刺激により音声停止を行う部位では最大とならなかった。

図8は覚醒した人の言語理解（Wernicke's area）に重要な皮質領域の光学的マップを示す。図8の像Aは患者の皮質表面を示し、その解剖学的指向は左側が前部、下側が下部、上側に沿って外側溝が走っている。光学的像像太いラインの左側の皮質組織全部は外科手術的に残存している。箇所#1および#2は音声に対する本質的なもの（例えば、ネーミング物体に対する液体の皮質刺激のブロックされた可能性）として識別される。箇所#3では3つの刺激試行における1つのネーミング誤差を見いだした。外科手術的除去が太いラインの屈印でラベルされた領域に到達すると、患者の言語は劣化する。図Aのラベルを付していない箇所全部は誤りはないが皮質刺激中スライドをネーミングする。図8の像Bは言語ネーミング試行中に得られた皮質のグレイスケール像の差分像度のオーバーレイを示す（言語ネーミング試行を説明している図6参照）。光学的変化の大きさはこの像の右側にグレイスケールバーで示す。この像は外科医がこの発見を手術

に用いて言語皮質をマップする手段を示す。

図9はWernicke's area（言語理解）で誘発された人の皮質のダイナミック光学的変化の時間コースおよび大きさを示す。図9Aには図8に示す4角枠で囲まれた領域内の組織の光吸収の変化度をプロットして示す。4角枠1および2のプロットは本質的な言語箇所上に位置し、4角枠4、5および6は第2言語箇所上に位置する。これら5つの箇所の各々の表示は患者が言語ネーミングタスクを行っている間に発生した舌しい変化を示す。図9Bは図8に示す6つの番号を付していない4角枠からの変化度を示す。これら箇所内では十分な増強はない。

## 例 2

本例は低級腫瘍のインドシアニンググリーン像を示す。手術前にMRI走査を行った。更に、患者を例1に使用した上述した本発明装置を用いて腫瘍組織について検査した。

興味のある特定の皮質表面区域の平均制動像が得られた。インドシアニンググリーン染料を時刻0において深部静脈カテーテルに挽として導入した。図10は低級CNS腫瘍を識別する染料のダイナミック差分像を示す。この一連の像は低級CNS腫瘍（星状細胞腫、等級1）を有する患者から得られたものである。図10A（左上）において、外科医が脳の上に付けた文字ラベルは腫瘍上にあって手術中に超音波により識別される。しかし、このタイプ及び等級の腫瘍は、腫瘍の外科的除去を始めた正常組織から識別することは困難であることが知られている。図10B（中央左）は染料（1mg/kg）のインドシアニンググリーン）の静脈注入から約15秒後に得られた差分像を示す。図10C（左下）は染料注入の約30秒後の差分像を示す。腫瘍組織の部分が第1組織の染色状態を示す。図10D（右上）は、この低級腫瘍において、染料注入の45秒後における全ての組織（正常組織及び異常組織）の染色状態を示す。図10E（中央右）は染料注入の一分後の差分像を示し、図10Fは染料注入の5分後の差分像を示す（この低級腫瘍では完全なクリアランスを示す）。これらのデータは、インドシアニンググリーンは正常組織より速く低級腫瘍組織内に侵入し、正常組織からよりも良性質腫瘍因子からのほうが除去に時間がかかることを示す。従って、この装置によれば低級腫瘍でも検出することができる。更に、低級腫瘍組織を周囲の正常組織から手術中に

識別することができる。

従って、本発明装置によれば低級腫瘍でも撮像することができる。この腫瘍組織の次の病理学検査によりこの腫瘍が低級腫瘍であることを確かめた。

#### 例 3

本例は極めて悪性の CNS 腫瘍（神経膠腫）の像を示す。患者を例 1 につき述べたように神経外科方法で撮像した。腫瘍撮像方法は例 2 と同一にした。図 11 に示す一連の像は悪性 CNS 腫瘍（神経膠腫、星状細胞腫、等級 IV）を有する患者の皮質から得られたものである。図 11A（左上）は、悪性腫瘍組織が中心から右に集中しているが他の部分はほぼ正常であるグレースケール像を示す（このことは手術の 1 週間後に病理学的スライドにより確かめられた）。図 11B（中央左）はインドシアニンググリーンの静脈注入の 15 秒後の差分像であり、悪性組織内の最初の数秒における染料濃度が正常組織内での最初の数秒における染料濃度（図 11C 参照）と同様であることを示す。図 11C（左下）は、30 秒後において悪性腫瘍は正常組織に比べて著しく色が濃くなることを示す。図 11D（右上、染料注入の 1 分後）及び図 11E（右下、染料注入の 10 分後）は、良性腫瘍組織と異なり、悪性腫瘍組織では染料が著しく長く保持され、場合によっては悪性腫瘍組織内に長期間に亘って保持されつづける。従って、この装置によれば悪性腫瘍組織を識別し、手術中に正常組織と悪性組織とを区別することができることも、種々の等級の腫瘍（例えば正常対良性対悪性）を区別することができる。従って、腫瘍組織の位置を撮像しうるのみならず、悪性腫瘍は低級腫瘍より長期間染料を保持することから腫瘍を等級付けすることもできる。

#### 例 4

本例は組織が正常に見えるようになるまで悪性 CNS 腫瘍を切除した後の一連の像を示す。腫瘍切除部のこのタイプの撮像は腫瘍切除部のリアルタイム撮像の新規な方法を提供する。切除後に外科医が多数の組織サンプリングを行い、凍結切片の検査結果を待っているあいだに、図 13 に示す像が得られた。図 13 は腫瘍を切除した注目部分の一連の差分像を示す。注目部分には腫瘍が外科的に切除された後は腫瘍組織が無いものと考えた。通常、このサイズの切除縁部では、単一の凍結サンプルが病理学検査に得られるだけである。この研究のために、組織学を本

、又は（c）像がその全ダイナミックレンジに亘って最大に増強されるまで繰り返す（CCB 利得、黒レベル又は電磁放射源のこれ以上の調整は像を改善しない）。5. ステップ 4 において、（a）利得がその最大レベルにセットされ、又は（b）黒レベルがその最大レベルにセットされたが出力像がまだ最大に増強されていない場合、（a）の場合には CCB のセッティングを僅かに減少させ、電磁放射源強度を明確で丁度飽和するまで増大させる。（b）の場合には、黒レベルのセッティングを僅かに減少させ、電磁放射源強度を増大させ、ステップ 3 に戻る。

#### 例 6

この例は本発明方法および装置が腫瘍組織を全摘出することに関する実時間情報を外科医に提供するように手術室内において設定機能するかどうかを検査するようにした手術中の脳神経腫瘍モデルを用いる一連の実験を示す。脳神経腫瘍モデルは脳神経腫瘍モデルであり、最良の像が得られる光学撮像の染料取込み、クリアランスおよび総合パラメータを極くために用いた。このモデルの利点は腫瘍を操作的に再現可能にするとともに手術用顕微鏡下で腫瘍を摘出し、しかも本発明光学撮像により残留腫瘍を見出す点である。この方法の欠点は腫瘍が一層肉腫状に見えるとともに人神経膠腫と比較して血管の太さが小さいことである。

要するに、脳神経膠腫は腎臓型星状細胞腫のクローン集団から発生したエチルニトロソウリア誘導 F-344 脳腫瘍を用いる。この腫瘍は特に人星状細胞腫に顕微鏡的に類似である。その理由は双方が脳実質において星状細胞を有しており、且つ双方が電子顕微鏡の走査により見られるように直径 80-100  $\mu\text{m}$  のイントロサイトプラスミックスフィラを有するからである。神経膠腫細胞は 10% 胎児血清が補充されたウエイマウス媒体に保持される。生体細胞（ $5 \times 10^4$ ）は単層培養から抗トリプシン性を破壊するとともに各々が 140-160 g の 30 シンゼイック細胞の右脳半球内に定位固定的に埋め込まれる。右側前頭ローブ腫瘍の定位固定的圧縮は前頭葉面に対し 4.5 mm の調整中央から 3 mm、深さが 6 mm であった。この鼠は腫瘍時齢 3 歳であった。腫瘍は毛を剃り、頭皮を開き、適宜の腫瘍位置に 1 mm の穿頭した。細胞は 27 ゲージ針により注入し、左側に 30 秒後注入を行い、孔を青ワックスで塞いだ。頭皮を縫合し、この鼠を通常の活動および給餌と正常な 30 日時間観察した。この鼠は腫瘍時齢 10-14 日使用した。このモデ

発明で得られるマップと関連させるために腫瘍から 5 つの生体組織を取り出した。図 12A（左上）は腫瘍組織のグレースケール像を示す。図 12B は外科医が鼠の上に直接置いたラベルを有する腫瘍を示す。これらのラベルの目的は、本発明装置により差分像を得た後に外科医が組織検査のための病理学サンプルを除去しようとする部分を識別するためである。図 12C（左下）は染料注入の 1 分後の差分像を示し、図 12D（右下）は染料注入の 10 分後の差分像を示す。これらの染料注入後の差分像は腫瘍組織及び正常組織の部分を含む複数の像を示す。光学撮像の精度は病理学的検査により確かめられた。図 12D の右下の部分は外科医により生検されなかった腫瘍組織の領域を示すことに注意されたい。従って、広範な生検の場合でも、サンプリング調整が本発明の精度を超える。これらのデータは、本発明は腫瘍の切除後に腫瘍部の小さな残留腫瘍組織を識別することができることを示す。また、本発明は腫瘍部のからの生検組織の取り出しを助けるとともに現在使用されているサンプリング技術と関連する固有のサンプリング調整を低減することができる。

#### 例 5

本例は、全ダイナミックレンジに亘って最大強度を有する信号を抽出しうるように装置を最適化する CCD のセッティング手段を示す。CPU は次の特徴：（1）出力アナログ信号、明確に近い（即ち 225 に近い）画像値をはっきりした色（例えば赤）で表示する；（2）暗黒に近い（即ち 0 に近い）値も青のようなはっきりした色で表示する；を有するソフトウェアでプログラムする。CCD カメラの調整手順の一例は次の通りである。

1. カメラ制御ボックス（CCB）の利得及び黒レベルが 0 に初期設定されている場合、電磁放射源強度を、ビデオ信号が明確で丁度飽和するまで（即ち、出力アナログ像内の幾つかの値が 255 に近似してみえるまで）増大させる。
2. CCB の黒レベルを、出力像が暗黒で飽和して見えるようになるまで（即ち、出力アナログ像内の幾つかの値が 0 に近似して見えるまで）増大させる。
3. CCB の利得を、出力アナログ像内の幾つかの値が明確で飽和して見えるまで増大させる。
4. ステップ（2）及び（3）を、（a）利得がその最大可能値にセットされるまで、又は（b）黒レベルがその最大可能値にセットされるまで

ルでは、鼠は、活動および給餌増大のような腫瘍注入から 16-19 日後臨床的徴候を開始し、腫瘍膨張によるマウス効果から 19-27 日の間に片側麻痺し、ついに死亡した。

14 匹の鼠によって腫瘍の摘出前および後の像を含む完全な研究を行った。研究のために、鼠は 2% イソフルレインで麻酔し、大脳動脈は染料の導入管に用いた。麻酔は  $\alpha$ -クロラルツ（50 mg/kg、i.p. 導入）およびウレタン（160 mg/kg、i.p. 導入）により保持した。鼠は定位固定的ホルダに入れた。次いで、頭蓋の除去（例 7 以下）および後に腫瘍の研究を行った。腫瘍は前頭半分および右半球部の 2/3 を占めた。腫瘍に何ら汚染されていない圧縮された層は腫瘍包囲として確認され、対側の正常な半球部から腫瘍を分離していた。静脈染料としてインドシアニンググリーンをを用いた。導入後脳脊液には染料は何ら見いだされなかった。

皮質表面をまず最初撮像し、次いで、手術用顕微鏡を用いて腫瘍の全摘出を試みた。次に、光学撮像結果に基づく生検用の部位を選定し、その後組織検査を行った。生検試料は 10% パラホルマルデヒドでは固定し、ニッスル染色し、接着した。全ての試料は盲検し、腫瘍に対して正または負のラベルを付した。これらのデータを光学撮像結果と照合して残留腫瘍および結果の有効性を決めるために行う統計解析とを確認した。

撮像装置を以下に述べる。光は直流電源により調整されたタングステン-ハロゲンランプから取出し、ロングパスフィルタ（690 nm）を通過させ、50 または 100 nm 対物レンズを経て反射された直角プリズムを経て皮質表面に入射させる。反射光は同一の対物レンズにより捕捉され投影レンズにより CCD カメラ（COHU 63000）の表面に集束される。撮像装置は定位固定フレームに固定し、このフレームは対照動軸テーブル周囲に固定する。空間的に設計された自動ラッピングアルゴリズムによって少量の動きに対する補償を行う。像は 30 Hz で得られ 8 ビット（256 グレイレベル）でデジタル化された。2 秒毎に 30 平均化フレームを具える単一像を得（1 秒）、記憶（1 秒）した。制御像は染料注入前に得、次いで染料注入後 2 分に再び得る。染料注入は 1 秒に亘って行うとともに最後の制御像を記憶する。制御注入間の時間を 20 分として光学像をベースラインに戻すように

する。各試行の初期制御像は互いに差し引いて各試行のベースライン開始点が等しくなるようにする。

単一制御像を選択し、制御像(4-6像)の各々および制御注入後の像の各々から差し引く。かくして得た像は元の制御像により除算し、且つ100倍して染料注入前後の全シーケンスに戻り合成差分像を得るようにする。分離制御像間に生ずるピーク変化は0.1-0.7%であるが、染料注入によるピーク変化は図に示す通りである。像の個別の要素の空間解像度は $13.5 \times 11.7 \mu m^2$ であった。側面当たりの15-30画素から測定した4角枠を像上に示す。個別の4角枠の平均変化度を計算し、これを用いて種々の型の組織での時間に対する光学変化をグラフィ的に示す。

撮像研究は14匹の鼠により行った。組織の染料濃度の時間コースはダイナミックなものであった。9匹の鼠の皮膚からの16回の試行のうちの1mg/kgのドーズ量でのインドシアニンググリーン染料濃度による光学像は光学変化のダイナミック特性を示す。図16は注目領域のグレースケール像を示す。図16Aは注目部位のグレースケール像を示す。これは図14に示す鼠と同一の鼠の像であるが、頭蓋は神経腫瘍を含む左側半球部を露出するために除去するが右側半球部には正常な組織が含まれている。4角枠1は腫瘍上に置き、4角枠2は腫瘍の周囲に置き、4角枠3は正常な組織上に置く。図16Bは1mg/kgのインドシアニンググリーンが鼠に静脈注入した後1秒経過した注目部位の差分像を示す。この初期時間中、腫瘍組織はまず染料の取込みが腫瘍組織に生ずることを表わす測定可能な光学的变化を最初に示す。グレースケールバーは差分像の判の光学的变化の相対的な大きさを示す。図16Cおよび図16Dは染料注入後それぞれ4秒および30秒経過した注目部位の差分像を示す。これらの中間段では染料は正常組織および腫瘍組織の両方に集まる。図16Eおよび図16Fは染料注入後それぞれ1分および5分経過した注目部位の差分像を示す。これら後者の時間では染料は、これが正常組織から清浄になっていくも、いまだ腫瘍組織に集まっていることが明らかである。

ピーク光学変化は染料導入から6秒後に発生したが、正常な半球部が染料をクリアにした後腫瘍組織は染料クリアランスがないため、大きな光学量を保持し続ける。これらの変化は腫瘍箇所に対しては解剖的に局在するものである。

変化の量を示す。図18D、図18Cおよび図18Bは静脈内染料注入後4秒、30秒および60秒経過した腫瘍組織の差分像をそれぞれ示す。微細な生体は好適な染料含有を示す領域からおよび染料が急速にクリアされた領域から採取する。これらの生体は再解析し、後に生体が採取された箇所と照合する。染料がクリアされた領域から採取した生体は正常な細胞のみが含まれることを示し、染料が滞留した領域から採取した生体は腫瘍細胞のみが含まれることを示す。皮膚表面像像に見られる一層迅速な立上がり速度は正常なものと比較して腫瘍に対して正である抽出像を示す。腫瘍および正常な脳間の著しい差が立上がり速度、ピーク光学変化および染料注入後60秒経過した台地部に對しても存在する(全て $p < 0.01$ )。図15-18は腫瘍抽出外科手術全体に亘り繰り返し適用し得る染料の多重注入と組合せて本発明方法および装置を適用し得ることを示す(この場合には染料は4回の個別の注入を行う)。さらに、腫瘍組織内の残留腫瘍の極めて小さい島状部をマップすることができる。

光学像の感度および特別性は34回のサンプル( $n=12$ 匹の鼠)に対して決めることができる。光学像により腫瘍に対して負であるとみられる15匹の生体のうち、14匹の生体が組織解析により腫瘍からクリアであった(感度93%)。腫瘍に対して負であった染料の大部分が腫瘍抽出部所の腐敗および深さの箇所からとったものであった(その腐敗および変性回をしぼしぼ生じた)。光学像により腫瘍に対して正であるとみられる19匹の生体のうち、17匹の生体試料は腫瘍に対して正であった(比率89%)。2つの箇所は組織的には腫瘍に対し負であるが生体的には正であった。その理由は腫瘍組織の汚染が存在しなかったためである。これらの結果のほぼ大部分は $p < 0.001$ である。

図19は腫瘍組織対非腫瘍組織での染料取込みおよびクリアランスのダイナミック情報を示す。これは図18Aから4角枠1および2によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の百分率変化の平均値をプロットして示す。電磁放射線吸収の増大は特定の時間における組織中の染料の濃度の関数である。グラフ“腫瘍組織”は図18Aから得た4角枠1内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示し、グラフ“脳部正常”は図18Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。このデータおよび図19から得たデータは本発明期

光学信号は染料注入後2-3秒内で変化し、全部で3つの部位、腫瘍組織、腫瘍周囲および正常な脳注入後6秒でピークとなる。しかし、3つの異なる組織の型は最初の4秒に亘って上昇してピーク光学変化に到達し、平坦な台地は最初の30秒後に生ずる。腫瘍組織は腫瘍包囲部(16.4 $\pm$ 0.8%)または正常な脳(9.7 $\pm$ 4.7%)よりも著しく異なる差分変化度(40.5 $\pm$ 0.6%)を有する。

図17は図16Aからの4角枠1、2および3によって示される空間領域に亘る電磁放射線吸収平均の変化度の平均値をプロットして示す。吸収の増大は特定時間における組織中の染料濃度の関数である。グラフ“腫瘍組織”は図16Aから得た4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示し、グラフ“正常な脳”は図16Aから得た4角枠3内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。このデータおよび図16からのデータは本発明方法および装置が非腫瘍組織から腫瘍のみでなく、腫瘍細胞対正常な細胞の可変密度を含む腫瘍部位-包囲部位をも識別し得ることを示す。

ピーク光学変化は染料注入後4-6秒で常時到達するため、腫瘍包囲部または正常な脳と比較して腫瘍組織の光学変化度は著しく迅速であった。腫瘍組織への染料濃度の一層迅速な割合は迅速な時間コースとして表示する。腫瘍組織の立上がり時間は腫瘍包囲部および正常な脳よりも一層迅速且つ大きかった( $p < 0.01$ )。14匹のうちの13匹の鼠では、正常な組織および腫瘍包囲部がベースラインに戻った後の腫瘍の光学信号が大きく増大( $> 2$ 分)した。最後に正常な組織および腫瘍包囲部も染料取込みが著しく相違した(立上がり時間、正常2.4%/秒、腫瘍包囲部4.0%/秒)。従って正常な取込みおよびクリアランスのダイナミックな特性は切除線部を撮像する際に含まれる組織の型を決定するのが臨界的となる。

この鼠神経腫瘍モデルはすべての可視腫瘍が除去されると、抽出線部を撮像する機会が得られることである。図18は切除された腫瘍線部の腫瘍細胞の残留痕跡を表わす染料取込みのダイナミック像を示す。これは図14-17に示す同一の鼠での研究の継続である。図18Aは腫瘍が切除された後の鼠の左側半球部の高拡大像を示す。4角枠1は残留腫瘍細胞の僅かな痕跡を含む領域上にあり、4角枠2は正常な組織のみを含む領域上に位置する。グレースケールバーは差分像の光学的

量および方法によって極めて高い空間および時間解像度で腫瘍線部内で非腫瘍組織から腫瘍組織を識別し得ることを示す。

#### 例 7

この例は本発明方法および装置が外科手術前後無損傷頭蓋を経て撮像し得るかどうかを検証する鼠神経腫瘍を用いる一連の実験を示す。電磁放射線の透赤外波長が骨および皮膚を経て透過することは既知である。腫瘍組織の撮像を鼠の無損傷頭蓋を経て行った。腫瘍組織度は皮膚を露出する場合よりも複雑ではなかった。しかし、腫瘍組織を有する頭蓋の下側の部位は容易に確認し、局限化し、数分後染料を濃縮し続けた。最初染料注入後腫瘍部位を対向側の半球部の正常な脳よりも大きな信号を示した。染料注入後1分して染料は正常な脳からクリアとなり、残留信号は腫瘍組織内に予予線/垂直線に残留した。

図14は本発明を用いて無損傷頭蓋による腫瘍を確認し得ることを示す。図14Aは鼠の頭蓋表面のグレースケール像である。縦線は像の中央を走っている。腫瘍細胞が数日前に左側に注入され、従ってこの鼠はその脳の左側半球部に神経腫瘍が発生する。右側半球部は正常である。4角枠1は脳の腫瘍の発生領域上に置き、4角枠2は正常な組織上に置く。図14Bはインドシアニンググリーン染料が鼠に手術中に注入された後1秒経過した差分像である。腫瘍組織を含む領域は無損傷頭蓋を経て直ちに見え得るようになる。図14Cは染料注入後5秒で染料が正常な組織および腫瘍組織に充滿していることを見ることができ、図14Dは、染料注入後1分経過して正常な組織が染料を清浄にするが、染料は腫瘍領域にまだ保持されている。この差分像中心の染料の濃度は腫瘍で高濃度の染料である。

4匹の鼠で10回頭蓋を経て撮像された光学変化の時間コースを例15に示す。この光学変化は腫瘍上および正常な半球部上に直接載せた4角枠内の平均光学変化によって決める。吸収の増大は特定時間における組織の染料の濃度の関数である。グラフ“腫瘍組織”は図14Aから4角枠1内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。グラフ“正常な脳”は図14Aから4角枠2内の吸収変化のダイナミクスをプロットして示す。頭蓋を経て撮像された腫瘍のピーク光学変化は13.1 $\pm$ 3.9%であり、正常な脳(7.8 $\pm$ 2.3%)と比較して著しく大きい( $p < 0.01$ )。染料注入後60秒経過した台地部は腫瘍組織(40.5 $\pm$ 0.6%)が正常な脳

(3.1 ± 0.7) と比較して著しく大きかった

#### 例 8

この例は迷走神経を刺激して知覚皮質を活性化させるネズミのモデルを示す。特に、座骨神経を直接刺激することにより麻酔をかけたネズミに求心性の知覚入力を生じさせた。図5の最も左側の像は麻酔をかけたネズミの後脚知覚皮質のグレースケール像である。信率は個々の毛細血管を区別し得るように(この像では最も小さい血管を見ることができ)十分高くする。中央の像は安静中に光強度の制御量の割合を変えた像である。この光学的変化の大きさをこの像の中央にグレースケールバーで示している。右側の像は座骨神経の刺激中の後脚知覚皮質における光学的変化の割合を変えたマップである。従って、本発明による観測及び方法を利用して、被検体の種々の部位に相当する皮質の機能部位をマップすることができる。

#### 例 9

この例は染料の取込み及び保有に係わる差分ダイナミックにより、慣例のMRI撮像でのコントラストの増強を図らない人間の患者における腫瘍組織を特徴付け、且つ識別し得ることを示す。撮像技法では非良性的腫瘍部分を探索することはできない。図13の像は患者の腫瘍をMRIでコントラストの増強をはからなかったものである。このようにコントラストを増強しないことは良性腫瘍では普通である。しかし、光学的撮像は所る腫瘍を非良性的タイプのもの(紅門状癌細胞腫)として識別することができた。図13Aは注目部位のグレースケール像を示す。図13Bは染料注入前の差分像を示す。図13Cは静脈に染料を注入してから1分後の注目部位を示し、図13Dは染料を注入してから5分後の注目部位を示す。なお、染料はかなり長い時間組織内に保有される。図10、図11及び図12に示すように、このようなダイナミックな特性は非良性的腫瘍の特徴である。

#### 例 10

この例では末梢神経の機能部位を撮像した。ネズミに麻酔をかけて解剖して座骨神経を露出させた。局の電極を用いて座骨神経の末端を電気的に刺激しながら第1シーケンスの差分像を得た。刺激によるピーク光学変化を含む種々の像を調

べることにより、神経の刺激箇所から内在光学的変化が広がることが判った。次に刺激電極の両方の近い距離にて神経をクラッシュさせた。次いで第2シーケンスの差分像を得て、このシーケンスからの対応する差分像と第1シーケンスの差分像からのピーク光学変化を含んでいる像とを比較した。この結果、神経を破壊した箇所では本来の光学的変化が急激に減少することが判った。

最後に、クラッシュさせる箇所の前方の神経を刺激して、内在光学的変化が急激に終了することを再び確かめた。この方法によって破壊又は損傷末梢神経組織の位置及び大きさを顕示化することができる。

#### 例 11

この例は原脳神経腫瘍の機能部位の像を示す。原脳神経腫瘍(前庭蝸牛神経)を露出させる。音は最終的にこの神経を活動させる聴覚刺激を与える。適当な聴覚刺激が与えられる前と、その最中と、それ後の差分像のシーケンスは、神経の内在光学的変化がこの神経の機能的活動性に関連することを示した。次に、この神経の少量部位をクラッシュにより破壊させた。第2シーケンスの像は、聴覚刺激が神経の破壊箇所までその神経の内在光学的変化を喚起させることを示した。

#### 例 12

この例は多重波長及び/又はレーザ照射を用いて腫瘍組織から得た像、即ち内在信号による差分像を増強する種々な方法及び多重波長を用いて3次元情報を抽出する方法を示す。麻酔をかけたネズミの皮質部位を露出させた。まず、タングステンフィラメントランプからの白色光を照射して、双極刺激電極で皮質のこの部位を電気的に刺激する前と、その最中と、その後における第1シーケンスの差分像を得た。その次に、皮質を690nmの光で照射して第2シーケンスの差分像を得、その後510nmの光で照射して第3シーケンスの差分像を得た。この波長の変更は、光源と頭部との間に690±10nmの干渉フィルタ又は510±10nmの干渉フィルタを置くことによって行った。

まず690nm像を510nm像と比較することによりコントラスト増強像を計算した。次に、刺激中の690nm像を対応する510nm像と比較した。次いで、これらの比較像を合成して百分率の差分像を形成した。この方法では雑音が著しく低減され、従って信号/雑音比は著しく増大した。

次に、取得した多重波長像からの深度情報の抽出の仕方につき説明する。

光の波長が長くなるにつれて、皮質への侵入深さは大きくなり、光の波長が短くなるにつれて皮質への侵入深さは浅くなる。従って、690nm像は光が皮質にxmmまで侵入した像であり、510nm像はymmまで侵入した像であり、ここにx<yである。

510nm像から610nm像を差引くことにより、皮質組織内の(x-y)mmからxmmまでの深度からの情報を含んでいる「光学くさび」が得られる。他の一面の干渉フィルタを用いることによって、皮質の多くの異なる深度からの情報を含んでいる像のシーケンスを得た。こうして3次元情報を得ることが出来る。

次に、腫瘍成長させたネズミの腫瘍組織を露出させて、上述したすべての実験を繰返して、同様に信号/雑音比を改善し、且つ腫瘍組織における3次元情報を抽出し得ることを確かめた。しかし、この場合には組織を電気的に刺激する代わりに、インドシアニングリーン又はエバンスブルーの色素を染料として注入した。

最後に非コヒーレントのタングステンフィラメントランプの代わりに、染料同調可能なレーザ(コヒーレント光源)を用いて種々の波長で皮質を照射することにより上記実験を繰返した。レーザ(又は任意のコヒーレント光源)では、反射又は散乱での変化による信号成分を区別し得るという追加の利点を得られる。皮質をレーザでカメラと平行に直接照射する(レーザ及びカメラは頭部に垂直とする)ことにより、反射光だけで撮像する。レーザをカメラに対して角度θ動かすことによって、この特定角度での散乱光だけによる変化を測定した。

#### 例 13

この例は一对の像をx-y平面における変換での制約像による最適なものに自動的に変換するための本発明によるアルゴリズム及び観測を実施するCコードを示す。本発明による装置が順次取得される像を制約像に自動的に変換して、手作業内で動きをオンライン式に補償するようにアルゴリズムを実施することができる。なお、このアルゴリズムを整数演算で行なうことができるため、計算上有効であることは明らかである。又、このアルゴリズムに必要とされる殆どのメモリを動的に割り当てることであるから、このアルゴリズムはメモリを有効に使用する。

所るプログラムは撮像技法151フレームバッファに格納された2つの像を最適なものに自動的に変換し、これによりユーザが選択した注目部位における減算像の不一致が最小となる。ユーザはフレームバッファB1用の像を特定化し、次いでB1像に自動的に変換すべきフレームバッファALOW用の像を特定化する。注目部位の数が9個以下で、しかも探索深度が8以下の場合には、全データをフレームバッファからホストコンピュータのRAMに読み込むことができる。こうして、動作速度を向上させ、フレームバッファへのI/Oを減らすことができる。このプログラムは全ての計算に整数演算だけを使用するように簡単に変えることができる。

このプログラムは撮像技法のITEXランタイムライブラリにリンクさせたマイクロソフト社のC/C++バージョン7.0コンパイラでコンパイルすることができる。プログラムの実行は、撮像技法のITEX151シリーズのハードウェアから1k×1kフレームバッファ、AD1及びALUを制御するPC486コンパチブルホストコンピュータで行なう。



```

...../
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#include <stdlib.h>
#include <conio.h>
#include <time.h>
#include <graph.h>
#include <dos.h>
#include <dos.h>
#define MEM_CHUNK 20
#define QUIT -1
#define GO -2
#define RADDX_10 10
#define RETURN 13
#define ESC 27
#define CURSOR_UP 72
#define CURSOR_DOWN 80
#define CURSOR_RIGHT 77
#define CURSOR_LEFT 75
#define CURSOR_JUMP_UP 141
#define CURSOR_JUMP_DOWN 145
#define CURSOR_JUMP_RIGHT 116
#define CURSOR_JUMP_LEFT 115
struct data_box {
    int x, y;
    int height, width;
};
typedef struct data_box data_box;
int box_count = 0;
int depth = 10;
void init_box_overlay(void);
BYTE **ram_boxdata(data_box **map_ptr, int search_depth, int frame_buffer);
data_box **define_boxmap(void);
data_box *draw_boxes(void);
BYTE **diff_box(data_box **map_ptr, BYTE **f01, BYTE **f02,
    int box, int x_off, int y_off);
float sub_rect(data_box **map_ptr, BYTE **diff_rects, int search_depth,
    int ptr_place);
BYTE ***diff_map(data_box **map_ptr, int f01, int f02, int search_depth);
float sum_rects(data_box **map_ptr, BYTE ***diff_rects, int search_depth,
    int av_flag);
int min_boxsize(data_box **map_ptr, float *float_ptr, int search_depth);
float *var_rects(data_box **map_ptr, BYTE ***diff_rects, int search_depth,
    int av_flag);
data_box **define_boxmap(void) /* returns a pointer to an array of boxes */

int i = 0, maxbox = MEM_CHUNK; /* dynamically allocate mem in 20-box */
int error_flag = 0, inchar; /* chunks */
data_box *group_of_boxes;
data_box *box_pointer;
int watch = GO;
box_pointer = (data_box *)malloc(maxbox * sizeof(data_box));
if(box_pointer == NULL)

```

```

int curs_x = 235, curs_y = 220;
data_box *draw_boxes(void)
{
    int dcurs_x, dcurs_y;
    int x_start, y_start, x_length, y_length;
    int text_char, k;
    char box_number[3];
    data_box *box_pointer;
    box_pointer = (data_box *)malloc(sizeof(data_box));
    if(box_pointer == NULL)
        printf("TROUBLE AT 131\n");
    line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,1);
    line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,1);
    adi_hutmode(DYNAMIC);
    k = 0;
    x_start = y_start = x_length = y_length = 0;
    while (1) {
        text_char = getch();
        if (text_char == RETURN) {
            ++k;
            dcurs_y = 0;
            dcurs_x = 0;
            if (k == 1) {
                x_start = curs_x;
                y_start = curs_y;
                line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,0);
                line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,0);
            }
            if (k == 2)
                break;
        }
        else if (text_char == 0) {
            text_char = getch();
            switch(text_char) {
                case CURSOR_UP:
                    dcurs_y -= 1;
                    dcurs_x = 0;
                    break;
                case CURSOR_DOWN:
                    dcurs_y += 1;
                    dcurs_x = 0;
                    break;
                case CURSOR_LEFT:
                    dcurs_y = 0;
                    dcurs_x -= 1;
                    break;
            }
        }
    }
}

```

```

printf("TROUBLE AT 70\n");
group_of_boxes = (data_box **)malloc(maxbox * sizeof(data_box));
if (group_of_boxes == NULL)
    printf("TROUBLE AT 74\n"); /* FLAG 1 !!! */
else {
    while (watch != QUIT) {
        if (error_flag == 0) {
            printf("\nType ESC use draw_boxes\n");
            inchar = getch();
            if (inchar == 0)
                getch();
            if (ESC == inchar) {
                box_count = 1;
                init_box_overlay();
                while (watch != QUIT) {
                    if (i >= maxbox) {
                        maxbox += MEM_CHUNK;
                        group_of_boxes = (data_box **)realloc(group_of_boxes,
                            maxbox * sizeof(data_box));
                        if (group_of_boxes == NULL)
                            printf("TROUBLE AT 91\n"); /* FLAG 2 !!! */
                    }
                    group_of_boxes[i++] = draw_boxes();
                    printf("Do you want to draw box number %d\n",
                        (box_count + 1));
                    inchar = getch();
                    if (inchar == 0)
                        getch();
                    if (inchar == ESC)
                        box_count++;
                    else
                        watch = QUIT;
                }
            }
        }
        if (i < maxbox) {
            group_of_boxes = (data_box **)realloc(group_of_boxes,
                (i + 1) * sizeof(data_box));
            if (group_of_boxes == NULL)
                printf("TROUBLE AT 113\n"); /* FLAG 3 !!! */
            return(group_of_boxes);
        }
    }
}

```

.....  
 ※テキストは ITEX 151 A D I オペレータ キャパビリティのオ  
 ーレータ キャパビリティを用いて示すためのユーザ用の図の1角枠を渡す  
 図表な図表である。その主な図表は、選択された図表の位置及び図表に關  
 する情報を示すデータボックス図表にポイントを示すことにある。  
 .....

```

case CURSOR_RIGHT:
    dcurs_y = 0;
    dcurs_x = 1;
    break;
case CURSOR_JUMP_UP:
    dcurs_y = -7;
    dcurs_x = 0;
    break;
case CURSOR_JUMP_DOWN:
    dcurs_y = 7;
    dcurs_x = 0;
    break;
case CURSOR_JUMP_LEFT:
    dcurs_y = 0;
    dcurs_x = -7;
    break;
case CURSOR_JUMP_RIGHT:
    dcurs_y = 0;
    dcurs_x = 7;
    break;
default:
    dcurs_x = 0;
    dcurs_y = 0;
    break;
}
else
    text_char = -1;
if ((k == 0) && (text_char != -1)) {
    line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,0);
    line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,0);
    curs_x = max(min(curs_x+dcurs_x,511),0);
    curs_y = max(min(curs_y+dcurs_y,479),0);
    line(B2,0,curs_x-4,curs_y,curs_x+4,curs_y,1);
    line(B2,0,curs_x,curs_y-5,curs_x,curs_y+5,1);
}
else if (k == 1) {
    line(B2,0,x_start,y_start,x_start + x_length,y_start,0);
    line(B2,0,x_start,y_start,x_start + y_length,0);
    line(B2,0,x_start,y_start + y_length,x_start +
        x_length,y_start + y_length,0);
    line(B2,0,x_start + x_length,y_start,x_start +
        x_length,y_start + y_length,0);
    curs_x = max(min(curs_x+dcurs_x,511),0);
    curs_y = max(min(curs_y+dcurs_y,479),0);
    x_length = curs_x - x_start;
    y_length = curs_y - y_start;
    line(B2,0,x_start,y_start,x_start + x_length,y_start,1);
    line(B2,0,x_start,y_start,x_start + y_length,1);
}

```

```

        line(B2,0,x_start,y_start + y_length,x_start +
            x_length,y_start + y_length,1);
        line(B2,0,x_start + x_length,y_start + y_length,1);
    }
    x_start = min(x_start,x_start + x_length);
    y_start = min(y_start,y_start + y_length);
    x_length = abs(x_length);
    y_length = abs(y_length);
    if (x_length < 10 || y_length < 10) {
        if (x_length > y_length)
            text(B2,0,x_start+x_length/2-7,y_start-15,
                HORIZONTAL,1,1,box_number);
        else {
            if (box_count < 10)
                text(B2,0,x_start-11,y_start+y_length/2-2,
                    HORIZONTAL,1,1,box_number);
            else
                text(B2,0,x_start-18,y_start+y_length/2-2,
                    HORIZONTAL,1,1,box_number);
        }
    }
    else
        text(B2,0,x_start+x_length/2-5,y_start+y_length/2-2,
            HORIZONTAL,1,1,box_number);
    box_pointer->x = x_start; /* x coordinate */
    box_pointer->y = y_start; /* y coordinate */
    box_pointer->height = y_length; /* vertical length */
    box_pointer->width = x_length; /* horix length */
    curs_x+=20; /* move cross-hairs to nearby location */
    curs_y+=20;
    return box_pointer;
}
void init_box_overlay(void)
{
    /* Clear B2, set path to B1, and overlay */
    fb_setmask(FRAMEB,0x00FF); /* B2 on B1 */
    fb_clr(B2,0);
    select_path(B1);
    adi_hbanksel(1);
    adi_hgroupsel(RED);
    adi_clearlut(250);
    adi_hgroupsel(GREEN);
    adi_clearlut(0);
    adi_hgroupsel(BLUE);
    adi_clearlut(0);
}
void init_itex_stuff(void)
{
    if (box == NULL)
        printf("\nScrewed at line 341\n");
    for (i=0;i<x_length;i++){
        box[i] = (BYTE *)malloc(sizeof(BYTE)*y_length);
        if (box[i] == NULL)
            printf("\nScrewed at 362\n");
        for (j=0;j<y_length;j++){
            box[i][j] = (BYTE)Xabs((int)(fb_ptr[i+count1][j]) -
                (int)(fb_ptr2[i+count2][j+y_off]));
        }
    }
    return(box);
}
BYTE ***diff_map(data_box **map_ptr, int fb1, int fb2, int search_depth){
    BYTE ***diff_rects,data_box **fb1_ptr,**fb2_ptr;
    int count=0;
    int i,j,k;
    unsigned int size, total_size = box_count*(2*search_depth + 1)*
        (2*search_depth + 1);
    size = 2*search_depth + 1;
    diff_rects = (BYTE ***)malloc(sizeof(BYTE **)*total_size);
    if (diff_rects == NULL)
        printf("\nScrewed at 379\n");
    fb1_ptr = ram_boxdata(map_ptr,0,fb1);
    fb2_ptr = ram_boxdata(map_ptr,search_depth,fb2);
    for (i=0;i<box_count;i++){
        for (j=0;j<size;j++){
            for (k=0;k<size;k++){
                diff_rects[count] = diff_box(map_ptr,fb1_ptr,fb2_ptr,i,j,k);
                count++;
            }
        }
    }
    return(diff_rects);
}
float *sum_rects(data_box **map_ptr, BYTE ***diff_rects, int search_depth,
    int sv_flag){
    unsigned int i,j,k,m,count=0;
    float size = (2*search_depth + 1);
    float total_size = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1)*box_count;
    float *sum_ptr;
    sum_ptr = (float *)calloc((unsigned int)total_size,sizeof(float));
    if (sum_ptr == NULL)
        printf("\nSCREWUP AT 537\n");
    for (i=0;i<box_count;i++){
        for (j=0;j<size;j++){
            for (k=0;k<size;k++){
                for (l=0;l<("map_ptr[i].width; i++)
                    for (m=0;m<("map_ptr[i].height; m++)
                        sum_ptr[count] += diff_rects[count][l][m];
                if (sv_flag == ON)
                    sum_ptr[count] = sum_ptr[count]/

```

```

{
    err_level(2);
    load_cfg("");
    init_sys0;
}
BYTE **ram_boxdata(data_box **map_ptr, int search_depth, int frame_buffer){
    int i,j,k,x_start,x_end,x_length,y_start,y_length;
    BYTE **image_rects;
    unsigned int count=0;
    unsigned int total_length=0;
    select_path(frame_buffer);
    for (i=0;i<box_count;i++){
        total_length += ("map_ptr[i].width + 2*search_depth;
        image_rects = (BYTE **)malloc(total_length*sizeof(BYTE *));
        if (image_rects == NULL)
            printf("\n409\n");
        for (i=0;i<box_count;i++){
            x_start = ("map_ptr[i].x - search_depth;
            x_end = ("map_ptr[i].x + search_depth + ("map_ptr[i].width;
            x_length = ("map_ptr[i].width + 2*search_depth;
            y_start = ("map_ptr[i].y - search_depth;
            y_length = ("map_ptr[i].height + 2*search_depth;
            for (j=x_start;j<x_end;j++){
                image_rects[count] = (BYTE *)malloc(sizeof(BYTE)*y_length);
                if (image_rects[count] == NULL)
                    printf("\nSCREWUP 420\n");
                fb_rvline(B1,j,y_start,y_length,image_rects[count]);
                count++;
            }
        }
    }
    return(image_rects);
}
BYTE **diff_box(data_box **map_ptr, BYTE **fb_ptr1, BYTE **fb_ptr2,
    int box_number, int x_off, int y_off){
    unsigned int x_length, y_length;
    static unsigned int count1=0, count2=0;
    int i,j;
    static int old_number;
    BYTE **box;
    x_length = ("map_ptr(box_number).width;
    y_length = ("map_ptr(box_number).height;
    if (box_number == 0)
        old_number = 0;
    if (old_number != box_number){
        count1 += x_length;
        count2 += x_length + 2*depth;
        old_number = box_number;
    }
    box = (BYTE **)malloc(sizeof(BYTE *)*x_length);
    count++;
    return(box_ptr);
}
float *var_rects(data_box **map_ptr, BYTE ***diff_rects, int search_depth,
    int sv_flag){
    unsigned int i,j,k,l,m,count=0;
    float size = (2*search_depth + 1);
    float total_size = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1)*box_count;
    float *var_ptr,*sv_ptr;
    sv_ptr = sum_rects(map_ptr,diff_rects,search_depth,sv_flag);
    var_ptr = (float *)calloc((unsigned int)total_size,sizeof(float));
    if (var_ptr == NULL)
        printf("\nTrouble at 477\n");
    for (i=0;i<box_count;i++){
        for (j=0;j<size;j++){
            for (k=0;k<size;k++){
                for (l=0;l<("map_ptr[i].width; l++)
                    for (m=0;m<("map_ptr[i].height; m++)
                        var_ptr[count] += ((float)(diff_rects[count][l][m])
                            - sv_ptr[count])*((float)(diff_rects[count][l][m])
                                - sv_ptr[count]);
                count++;
            }
        }
    }
    free(sv_ptr);
    return(var_ptr);
}
int *min_boxset(data_box **map_ptr, float *float_ptr, int search_depth){
    unsigned int i,j,box_jump;
    float metric,min_metric = FLT_MAX,position=0;
    int shift[3];
    div_t div_result;
    box_jump = (2*search_depth + 1)*(2*search_depth + 1);
    for (i=0;i<box_jump;i++){
        metric = 0;
        for (j=0;j<box_count;j++){
            metric += float_ptr[j]*box_jump + 1;
            if (metric < min_metric){
                min_metric = metric;
                position = i;
            }
        }
    }
    div_result = div((int)position,(int)(2*search_depth + 1));
    shift[0] = (int)position;
    shift[1] = depth - div_result.quot;
    shift[2] = depth - div_result.rem;
    return(shift);
}

```

```
int main(void)
{
    BYTE ***mock_pointer;
    char image[12];
    data_box **map_pointer;
    int *sum_ptr;
    float *sum_ptr;
    int *trans3;
    int itex_stuff;
    fb_init();
    _clearscreen( _GCLEARSCREEN );
    _settextposition( 10, 10);
    select_path(B1);
    _outtext("BASE Image : ");
    scanf("%s", image);
    im_read(B1,0,0,512,480,image);
    _settextposition( 15, 10);
    select_path(ALOW);
    _outtext("Image to translate : ");
    scanf("%s", image);
    im_read(ALOW,0,0,512,480,image);
    _settextposition(20,20);
    _outtext("Search depth: ");
    scanf("%d",&depth);
    select_path(B1);
    map_pointer = define_boxmap();
    sum_ptr = var_rects(map_pointer, mock_pointer, depth, ON);
    trans3 = min_boxset(map_pointer, sum_ptr, depth);
    printf("in VARIANCE : pos = %d, x_trans = %d, y_trans = %d\n",
        trans3[0], trans3[1], trans3[2]);
    free(mock_pointer);
    free(sum_ptr);
    free(trans3);
    return 0; }
```

FIGURE 1B

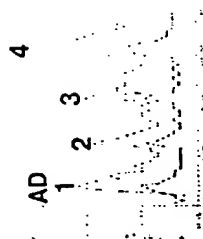


FIGURE 1A



FIGURE 1D



FIGURE 1C



FIGURE 2C2



FIGURE 2B2



FIGURE 2A2



FIGURE 2C4



FIGURE 2B4



FIGURE 2A4



FIGURE 3D



FIGURE 3C



FIGURE 3B



FIGURE 3A



FIGURE 3H



FIGURE 3G



FIGURE 3F



FIGURE 3E

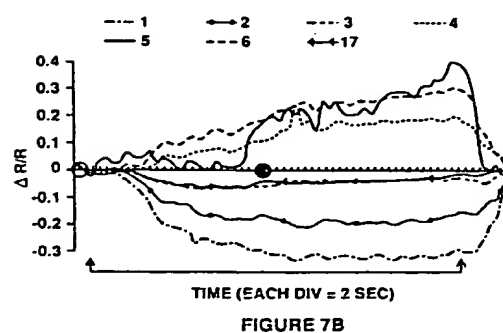
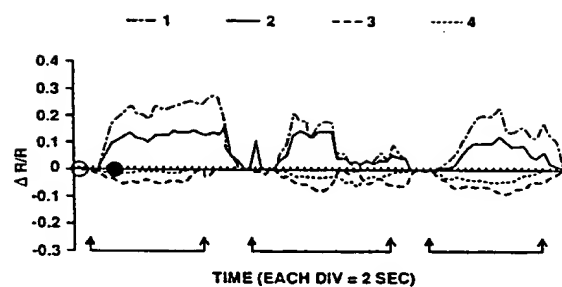
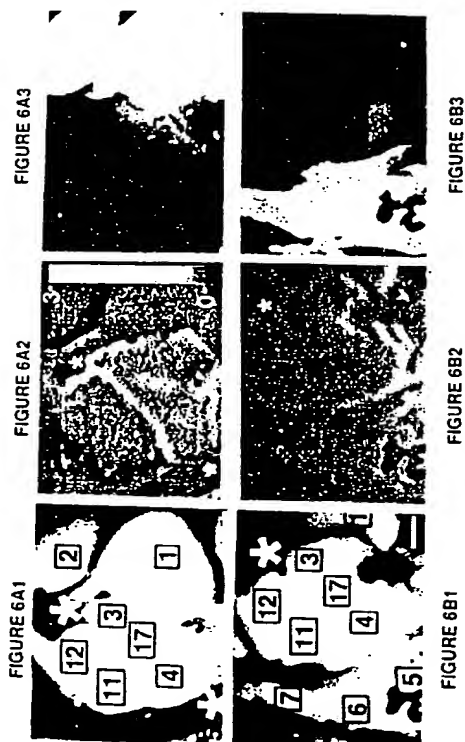
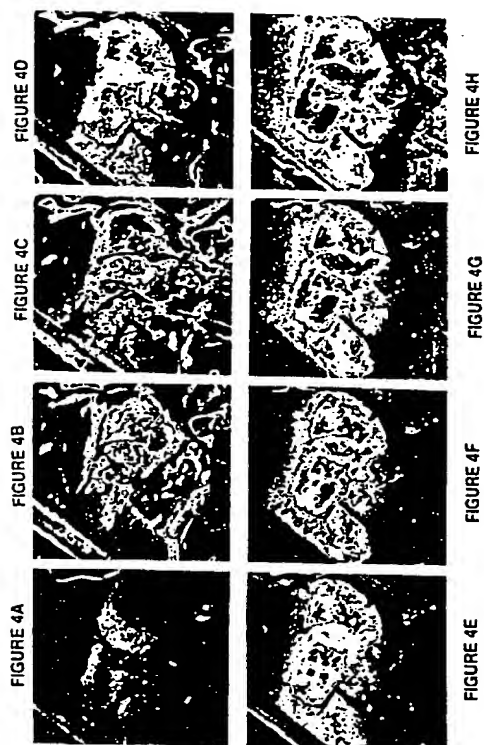


FIGURE 8A

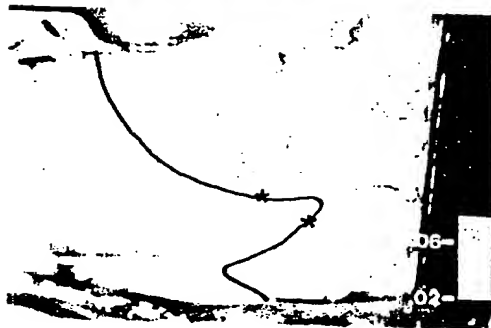
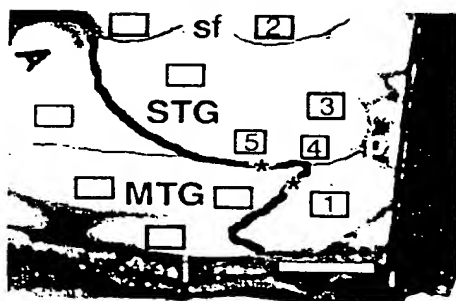


FIGURE 8B

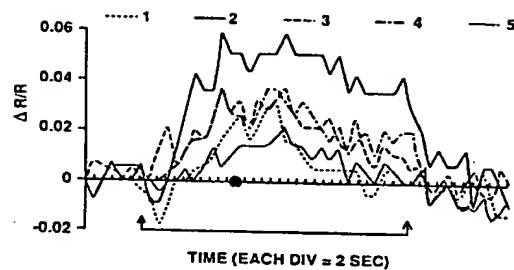


FIGURE 9A

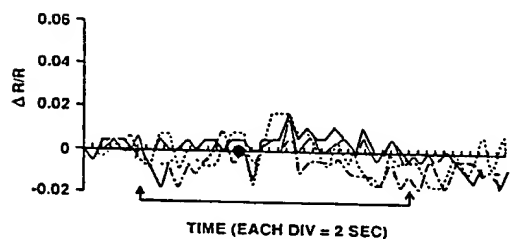


FIGURE 9B

FIGURE 10A

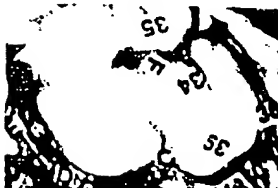


FIGURE 10D



FIGURE 10B

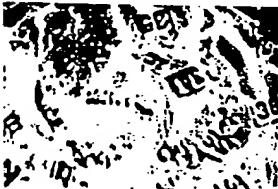


FIGURE 10E



FIGURE 10C



FIGURE 10F



FIGURE 11A



FIGURE 11D



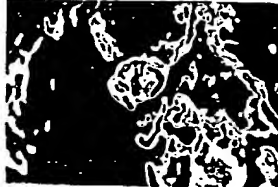
FIGURE 11B

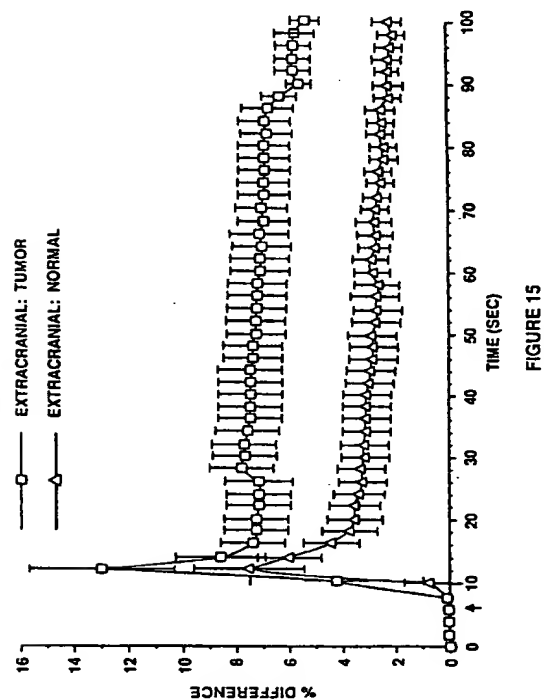
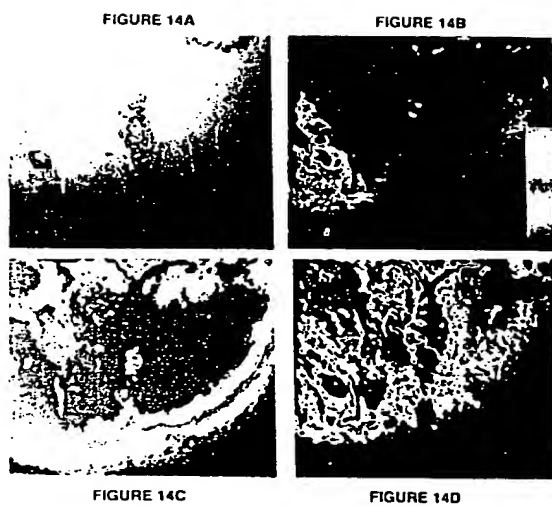
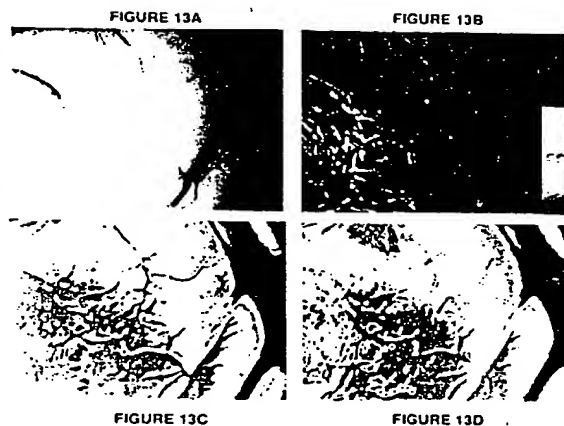
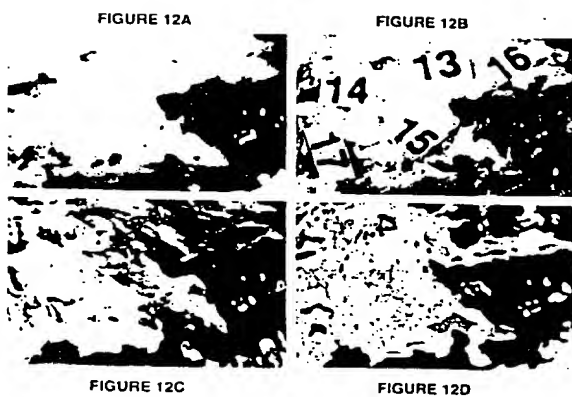


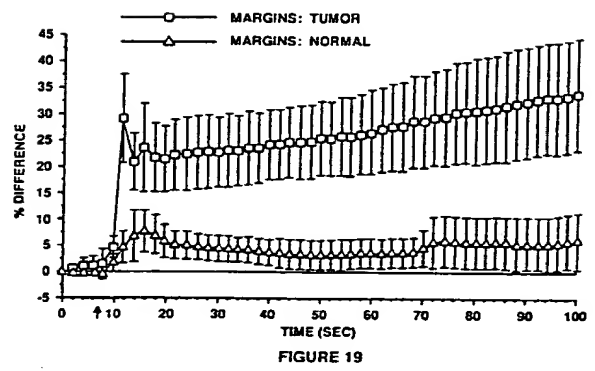
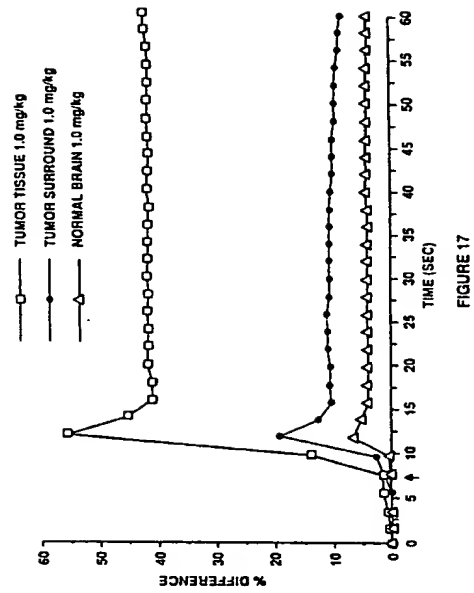
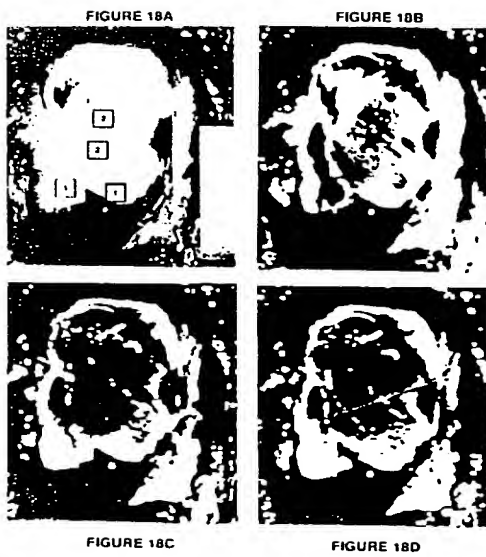
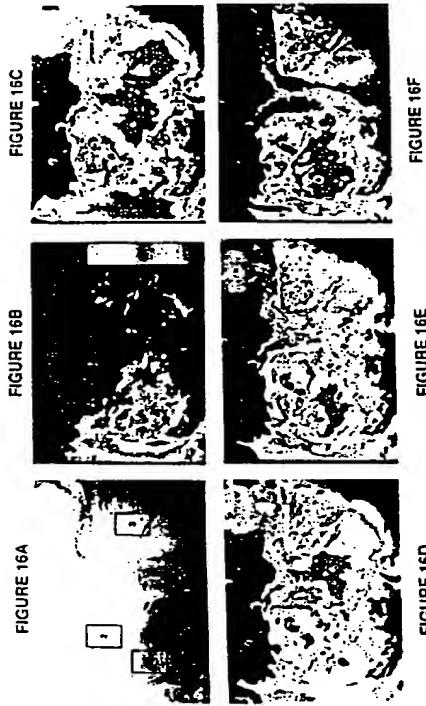
FIGURE 11E



FIGURE 11C







C (Continued). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		International application No. PCT/JP83/02373
Category*	Content of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Reference to other No.
A	US.A. 4,767,717 (BAIDEN), 30 AUGUST 1988.	1-15
A	US.A. 4,556,057 (HIRUMA ET AL), 03 DECEMBER 1985.	1-15



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**